

CARLOS ALBERTO KLIMECK GOUVÊA

SÍNTESE DE DERIVADOS DO ESTEVIOSÍDEO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná, como um dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Química.

CURITIBA
1996

CARLOS ALBERTO KLIMECK GOUVÊA

SÍNTESE DE DERIVADOS DO ESTEVIOSÍDEO

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná, pela comissão formada pelos professores:

Orientador:



Prof. Dr. Brás Heleno de Oliveira
presidente



Prof. Dr. Ricardo José Alves



Prof. Dr. Fábio Simonelli
Dep. de Química, UFPR

Curitiba, 15 de agosto de 1996

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado a minha família que durante este período teve uma enorme participação com o seu apoio, incentivo e paciência os quais foram fundamentais para a sua realização.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me proporcionado a oportunidade de realizar este sonho. Agradeço aos professores que souberam ensinar e incentivar. Aos funcionários desta instituição, pois sem estes nada seria possível. Aos meus amigos colegas de mestrado, os quais sabem que ficaram marcados em nossa mente e coração. Agradeço em especial ao professor Dr. Miguel Caro da Universidade Federal de Florianópolis, o qual sempre com muito boa vontade realizou as análises de ressonância magnética nuclear, e ao Rogério A. Strapasson que fez os espectros de infravermelho.

RESUMO

O estudo descrito nesta dissertação refere-se à síntese de compostos derivados do esteviosídeo. O esteviosídeo é um glicosídeo extraído da *Stevia rebaudiana*, fornecido pela Esteviafarma Ingá Industrial S.A.. Da hidrólise enzimática deste composto foi obtido o esteviol, um diterpeno ácido tetracíclico com esqueleto caurênico, do qual foram obtidos alguns derivados.

A bibliografia revisada mostrou que muitos diterpenos tetracíclicos naturais apresentam efeitos biológicos. Poucos foram os trabalhos encontrados de síntese de compostos semelhantes aos naturais na tentativa de reproduzir os seus efeitos.

O trabalho teve como objetivo, portanto, a preparação de alguns compostos com esqueleto caurênico, os quais supomos que possam apresentar atividades biológicas semelhantes aos modelos naturais descritos na literatura.

ABSTRACT

The studies described in this thesis refers to organic synthesis of stevioside. The stevioside, a glucoside extracted from *Stevia rebaudiana*, was supplied by Steviafarma Inga Industrial S.A.. The enzymatic hydrolysis gave steviol, an acid tetracyclic kaurenic diterpenoid, from which some derivatives were obtained.

The bibliographic survey showed that many tetracyclic diterpenoids have important biological activity. A few papers were found on the synthesis of similar compounds.

This work, therefore, had the objective to prepare some compounds with kaurenic skeleton whose we suppose will show biological activities similar to the models showed in the literature.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RMN ^1H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN ^{13}C - Ressonância magnética nuclear de carbono 13

s - singlete

sl - singlete largo

d - dublete

dd - duplo dublete

t- triplete

I.V. - Espectrometria no infravermelho

ppm - parte por milhão,

PDC - dicromato de piridínio

TBHP - hidroperóxido de *t*-butila

Py - piridina

AMPB - ácido *m*-cloro perbenzóico

SUMÁRIO

Termo de aprovação	ii
Dedicatória	iii
Agradecimentos	iv
Resumo	v
Abstract	vi
Lista de Abreviaturas	vii
SUMÁRIO	1
Lista de Figuras e Tabelas	2
I. INTRODUÇÃO	8
I.1 Objetivo	13
Referência Bibliográfica	15
MATERIAIS E MÉTODOS	22
II.1 Materiais	22
II.2 Método	23
2.1 Preparação do esteviol	23
2.2 Preparação do 15 α -hidroxi-esteviol	25
2.3 Preparação do 15-ceto-esteviol	26
2.4 Preparação do 15-ceto-esteviol éster metílico	27
2.5 Preparação do 16,22-diazo-15-ceto-esteviol éster metílico	28
2.6 Preparação do 16-ciclopropil-15-ceto-esteviol éster metílico	28
2.7 Preparação do 16,17 α -epoxi-esteviol	29
2.8 Preparação do 17-hidroxi-isoesteviol	30
2.9 Preparação do esteviolbiosídeo	30
2.10 Preparação do 16,17 α -epoxi-esteviolbiosídeo	31
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
Esteviol	32
15 α -hidroxi-esteviol	36
15-ceto-esteviol	38
16,22-diazo-15-ceto-esteviol éster metílico	40
16-ciclopropil-15-ceto-esteviol éster metílico	41
16,17 α -epoxi-esteviol	43
17-hidroxi-isoesteviol	44
Esteviolbiosídeo	45
16,17 α -epoxi-esteviolbiosídeo	46
IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

FIGURA 1 - ESTEVIOSÍDEO (1) E ESTEVIOL (2)

FIGURA 2 - HIDRÓLISE DO ESTEVIOSÍDEO (1), POR VIA ENZIMÁTICA À ESTEVIOL (2) , POR VIA ALCALINA À ESTEVIOLBIOSÍDEO (3) E POR VIA ACIDA À ISOESTEVIOL (4).

FIGURA 3 - REARRANJO DE WAGNER-MEERWEIN DO ANEL CICLOPENTANO DO ESTEVIOL.

FIGURA 4 - ROTA SINTÉTICA DOS DERIVADOS OBTIDOS.

FIGURA 5 - ORIDONINA(15) E LASIOCAURINA(16).

FIGURA 6 - DI HIDRO-ORIDONINA(17) E BUTANOTIOL-ORIDONINA(18)

FIGURA 7 - TRIPDEOLÍDEO(19) E TRIPTERFORDINA(20)

FIGURA 8 - LONGICAURENO(21).

FIGURA 9 - ADIÇÃO DO TIPO MICHAEL À ENZIMAS SULFÍDRICAS

FIGURA 10 - ÁCIDO-CAUR-8,15-DI EN-19-ÓICO(22) E ÁCIDO -CAUR-16-EN - 19-ÓICO(23)

FIGURA 11 - ÁCIDO XILÓPICO(24)

FIGURA 12 - 16 β ,17-DI HIDROXI-CAUR-19-ÉSTER D-GLUCOPIRANOSIL- (25),
16 β -HIDROXI-17-ACETOGLUCOSE-CAUR-19-ÉSTER
D-GLUCOPIRANOSIL (26),
ÁCIDO-16,17-DI HIDROXI-CAUR-19-ÓICO(27)

FIGURA 13 - ÁCIDO-CAUR-16-EN -19-ÓICO(28)

FIGURA 14 - ÁCIDO-16,17-DI HIDROXI-CAUR-19-ÓICO(27)

FIGURA 15 - HIDRÓLISE DO ESTEVIOSÍDEO(1) À HEXALDEIDO

FIGURA 16 - HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO ESTEVIOSÍDEO(1) À ESTEVIOL(2)

FIGURA 17 - ESTERIFICAÇÃO DO ESTEVIOL(2) À ESTEVIOL ÉSTER
METÍLICO(5)

FIGURA 18 - OXIDAÇÃO DO CARBONO 15 DO ESTEVIOL(2) À 15 α -HIDROXI-
ESTEVIOL(6)

FIGURA 19 - ESTERIFICAÇÃO DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL(6) À 15 α -
HIDROXI-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(10)

FIGURA 20 - OXIDAÇÃO DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL(6) À 15-CETO-
ESTEVIOL(7)

FIGURA 21 - ESTERIFICAÇÃO E DIAZOTAÇÃO DO 15-CETO-ESTEVIOL(7) À
16,22-DIAZO-15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(8)

FIGURA 22 - OXIDAÇÃO DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(10)
À 15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(11)

FIGURA 23 - CICLOPROPANAÇÃO DO 16,22-DIAZO-15-CETO-ESTEVIOL
ÉSTER METÍLICO(8) À 16-CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL
ÉSTER METÍLICO(9)

FIGURA 24 - EPOXIDAÇÃO DO ESTEVIOL(2) À 16,17 α -EPOXI-ESTEVIOL(12)

FIGURA 25 - ISOMERIZAÇÃO DO 16,17 α -EPOXI-ESTEVIOL(12) À 17-HIDROXI-ISOESTEVIOL(13)

FIGURA 26 - HIDRÓLISE ALCALINA DO ESTEVIOSÍDEO(1) À ESTEVIOLBIOSÍDEO(3)

FIGURA 27 - EPOXIDAÇÃO DO ESTEVIOLBIOSÓDEO(3) À 16,17 α -EPOXI-ESTEVIOLBIOSÍDEO(14)

FIGURA 28 - 16-CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(9) E ÁCIDO 16-CICLOPROPIL-15-OXO-CAUR-19-ÓICO

FIGURA 29 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO ESTEVIOL(2) (PASTILHA KBr)

FIGURA 30 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO (5) (PASTILHA KBr)

FIGURA 31 ESPECTRO DE RMN ^1H DO ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(5) (CDCl_3)

FIGURA 32 ESPECTRO DE RMN ^{13}C DO ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(5) (CDCl_3)

FIGURA 33 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL(6) (PASTILHA KBr)

FIGURA 34 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(10) (PASTILHA KBr)

FIGURA 35 ESPECTRO DE RMN ^1H DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(10) (CDCl_3)

FIGURA 36 ESPECTRO DE RMN ^{13}C DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO (11) (CDCl_3)

FIGURA 37 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO 15-CETO-ESTEVIOL (7) (PASTILHA KBr)

FIGURA 38 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO 15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(11) (PASTILHA KBr)

FIGURA 39 ESPECTRO DE RMN ^1H DO 15-CETO-ESTEVIOL (7) (CDCl_3)

FIGURA 40 ESPECTRO DE RMN ^{13}C DO 15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(11) (CDCl_3)

FIGURA 41 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO 16,22-DIAZO-15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(8) (PASTILHA KBr)

FIGURA 42 ESPECTRO DE RMN ^1H DO 16,22-DIAZO-15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(8) (CDCl_3)

FIGURA 43 ESPECTRO DE RMN ^{13}C 16, 17 DIAZO ESTEVIOL METIL ÉSTER(8) (CDCl_3)

FIGURA 44 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO 16 CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(9) (PASTILHA KBr)

FIGURA 45 ESPECTRO DE RMN ^1H DO 16 CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO (9) (CDCl_3)

FIGURA 46 ESPECTRO DE RMN C^{13} DO 16 CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO (9) (CDCl_3)

FIGURA 47 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO 16,17 α -EPOXI-
ESTEVIOL(12) (PASTILHA KBr)

FIGURA 48 ESPECTRO DE RMN ^1H DO 16,17 α -EPOXI-ESTEVIOL(12) (CDCl_3)

FIGURA 49 ESPECTRO DE RMN ^{13}C DO 16,17 α -EPOXI-ESTEVIOL(12) (CDCl_3)

FIGURA 50 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO 17-HIDROXI-
ISOESTEVIOL(13) (PASTILHA KBr)

FIGURA 51 ESPECTRO DE RMN ^1H DO 17-HIDROXI-ISOESTEVIOL(13) (CDCl_3)

FIGURA 52 ESPECTRO DE RMN ^{13}C DO 17-HIDROXI-ISOESTEVIOL(13)
(CDCl_3)

FIGURA 53 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DO ESTEVIOLBIOSÍDEO(3)
(PASTILHA KBr)

FIGURA 54 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO 16,17 α -
ESTEVIOLBIOSÍDEO(14) (PASTILHA KBr)

FIGURA 55 ESPECTRO DE RMN ^1H DO 16,17 α -EPOXI-
ESTEVIOLBIOSÍDEO(14) (CD_3OD)

FIGURA 56 ESPECTRO DE RMN ^{13}C DO 16,17 α -EPOXI-
ESTEVIOLBIOSÍDEO(14) (CD_3OD)

TABELA I - DADOS DOS ESPECTROS DE RMN ^{13}C DO ESTEVIOL
ÉSTER METÍLICO DE REFERÊNCIA E ESTEVIOL ÉSTER
METÍLICO(5)

TABELA II - DADOS DOS ESPECTROS DE RMN ^{13}C DO ESTEVIOL

ÉSTER METÍLICO(5), 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(10), 15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(11), 16,17-DIAZO-15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(8), 16-CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(9)

TABELA III - DADOS DOS ESPECTROS DE RMN ^{13}C DO ESTEVIOL

ÉSTER METÍLICO(5), 16,17 α -EPÓXI-ESTEVIOL, 16,17 α -EPÓXI-ESTEVIOLBIOSÍDEO(14) E 17-HIDRÓXI-ISOESTEVIOL(13)

TABELA IV - DADOS DOS ESPECTROS DE RMN ^{13}C DO 17-HIDROXI-

ISOESTEVIOL ÉSTER METÍLICO REFERÊNCIA E 17-HIDRÓXI-ISOESTEVIOL(13)

TABELA V - DADOS DOS ESPECTROS DE RMN ^{13}C DO 16-CICLOPROPIL-

15-CETO-ESTEVIOL ÉSTER METÍLICO(9) E ÁCIDO 16-CICLOPROPIL-15-OXO-CAUR-19-ÓICO

I- INTRODUÇÃO

A crescente tendência de consumo de alimentos naturais e de alimentos dietéticos, tem levado a procura de adoçantes naturais não calóricos como substituinto para sacarose. Um importante adoçante natural não calórico é o esteviosídeo, um diterpeno glicosídeo, extraído da *Stevia rebaudiana* Bertonii da família das *Eupatoriaceae* (Pezzuto, J., et. al., 1985).

A *S. rebaudiana* é uma planta natural da região nordeste do Paraguai e da região de fronteira do Brasil com o mesmo, e produzido comercialmente no Brasil, Korea, Israel e Japão (Oliveira, B. H., 1989). No Paraguai o chá da *Stevia* é utilizado no tratamento de diabetes (Soejarto, D., et. al., 1983) e como contraceptivo oral, contudo este ultimo efeito também pode ser atribuído a outros compostos presentes no extrato da *Stevia* (Planas, G.M., 1968). Da hidrólise da *Stevia* é extraído o esteviosídeo, o qual no Brasil é utilizado como adoçante não calórico há mais de uma década (Pezzuto, J., 1985) (Diário Oficial, 1980) e é produzido comercialmente pela companhia Steviafarma Ingá Industrial S.A., localizada em Maringá no estado do Paraná. A empresa possui uma capacidade de produção instalada de 10 tn/ano, entretanto é no Japão que o uso do esteviosídeo é mais difundido, sendo utilizado no preparo de bebidas, sobremesas, vegetais, e até em frutos do mar (Tsuchita, S., 1979) (Abe, K., Sonobe, M., 1977). Recentemente foi aprovado nos Estados Unidos o uso do esteviosídeo como edulcorante no preparo de bebidas (Fujita, E., 1984).

Cêrca de trezentas vêzes mais doce que a sacarose (Briedel e Laville, 1931) (Wingard, R. E., 1980) (Kazuyama, S., 1979), o esteviosídeo tem mostrado ser seguro para o consumo humano. Em trabalhos realizados em ratos, tanto o esteviosídeo quanto o extrato bruto da *Stevia* não apresentaram qualquer efeito tóxico (Kosela, S., et.al., 1966). Quando testado em *Salmonella typhimurum*, *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* também não apresentou efeitos mutagênicos. Em seres humanos o esteviosídeo quando ingerido é expelido de forma inalterada, contudo em testes realizados com ratos o esteviosídeo foi hidrolizado a esteviol pela microflora intestinal (Akashi and Yokoyama, 1975) (Pezzuto, J., 1985).

A planta foi incluída na literatura em 1899 e em 1905 foi descrita mais completamente (Bertoni, M. S., 1905). Em 1908 os glicosídeos foram isolados da *Stevia* por Rosemack e em 1931 foi isolado pela primeira vez o esteviosídeo (glicosídeo) do qual foi obtido através de hidrólise enzimática, 1 mol de esteviol (aglicona) e três mol de D-glicose, sendo utilizado para isso suco digestivo de cabra (Briedel e Laville, 1931). Contudo somente em 1963 a estrutura do esteviosídeo foi elucidada como sendo um diterpeno tetracíclico e propostas as posições das glicoses (Wood, H. B., 1955). Em 1977 foi elucidada não só a posição da sofrorse mas também a posição da hidroxila (Mosettig, E., 1963) (Tanaka, O., 1977).

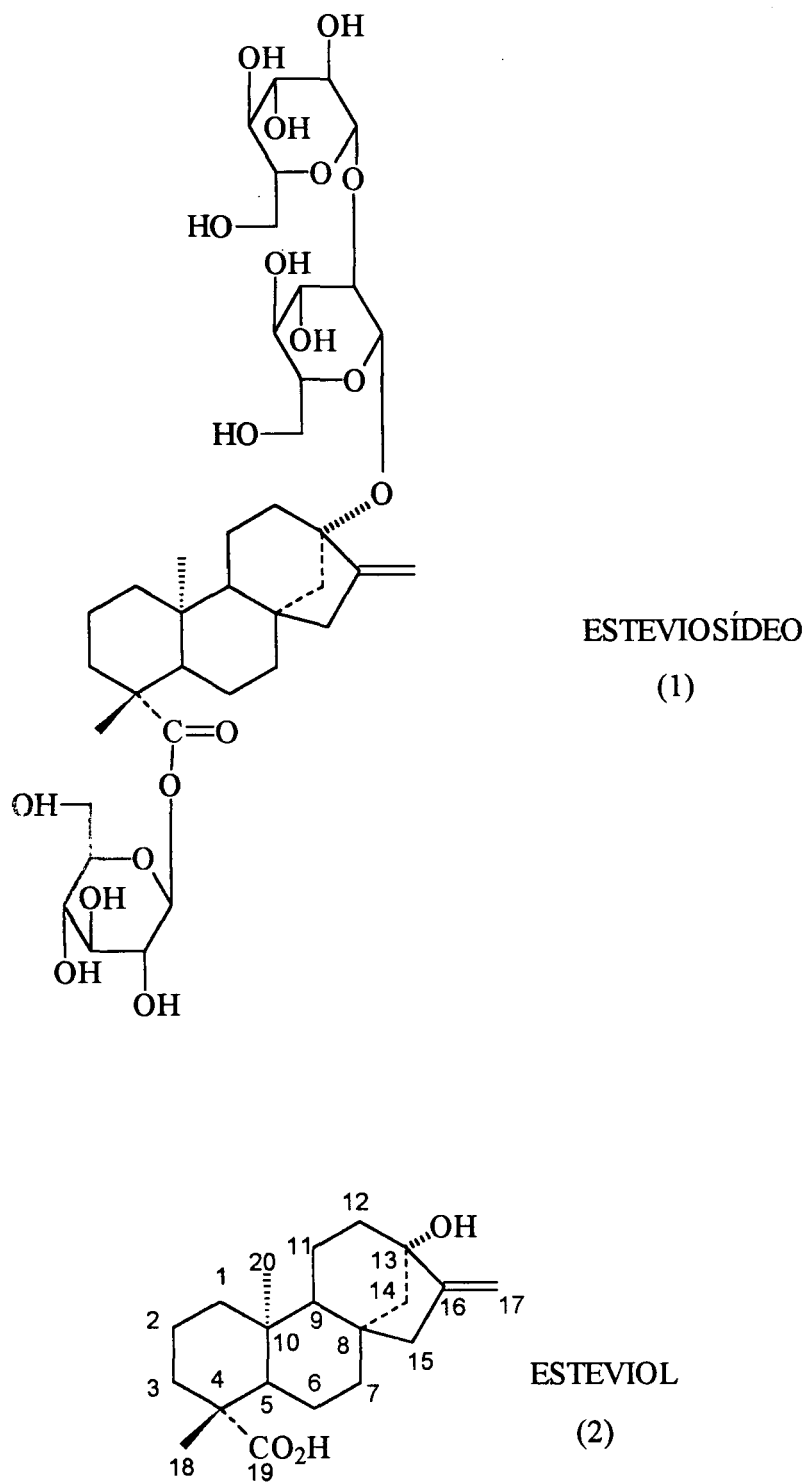


figura 1. ESTEVIOSÍDEO (1) E ESTEVIOL (2)

O esteviosídeo é encontrado na folha da *S. rebaudiana* a uma concentração de aproximadamente 10% (Kubo, I., et. al., 1974). A extração do esteviosídeo é feita com água, e em processo industrial utiliza-se *n*-butanol (Oliveira, B. H., 1989).

Da hidrólise enzimática do esteviosídeo obtem-se 1 mol de esteviol e 3 mol de glicose. Através de hidrólise alcalina obtemos 1 mol de esteviolbiosídeo e apenas 1 mol de glicose. A hidrólise ácida produz um isômero do esteviol, o isoesteviol, e três mol de glicose (Kinghorn, 1982) (Ogawa, T., 1980).

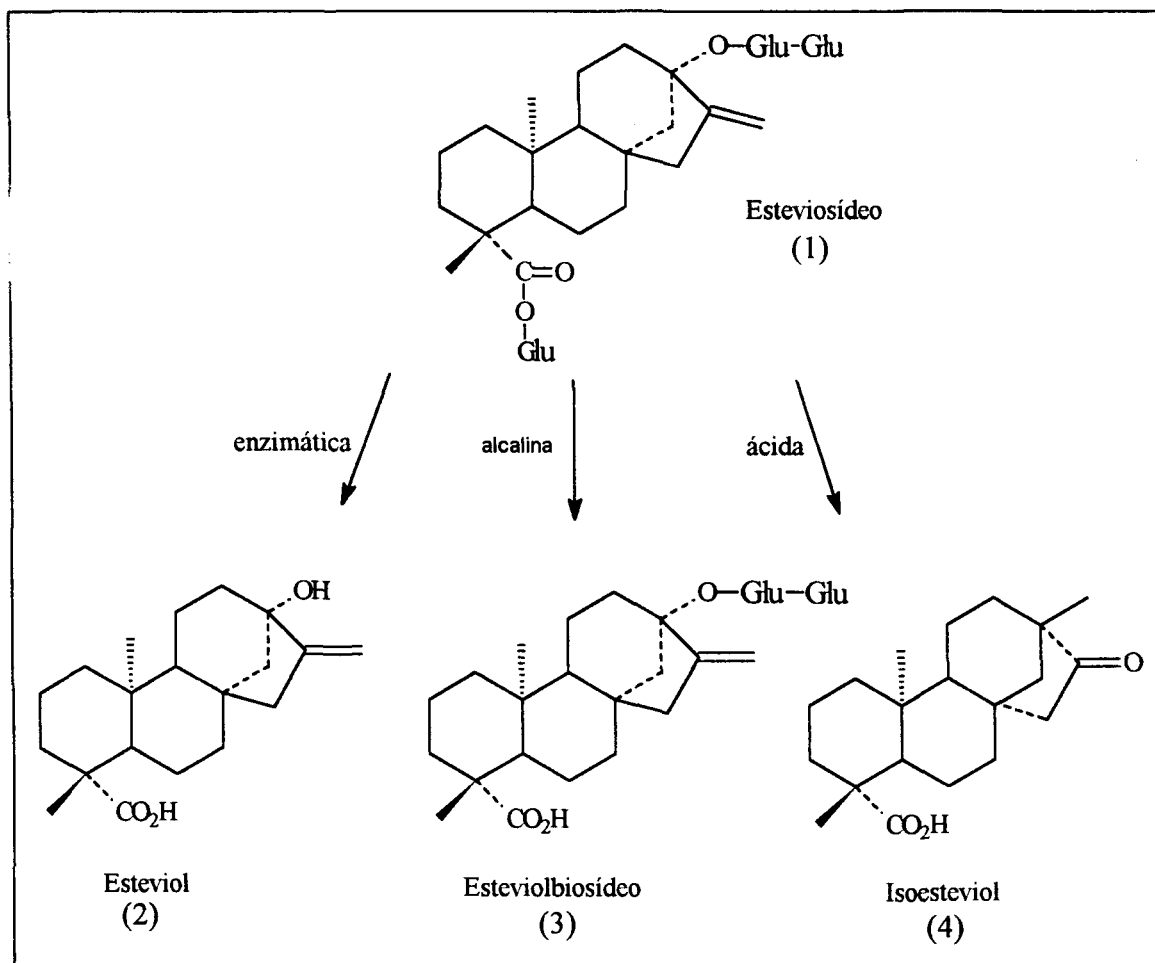


figura 2

HIDRÓLISE DO ESTEVOSÍDEO (1)

POR VIA ENZIMÁTICA À ESTEVIOL (2)

POR VIA ALCALINA À ESTEVIOLBIOSÍDEO (3)

POR VIA ÁCIDA À ISOESTEVIOL (4)

O rearranjo do esteviol a isoesteviol é um caso de rearranjo de Wagner-Meerwein, onde ocorre uma inversão do anel D.

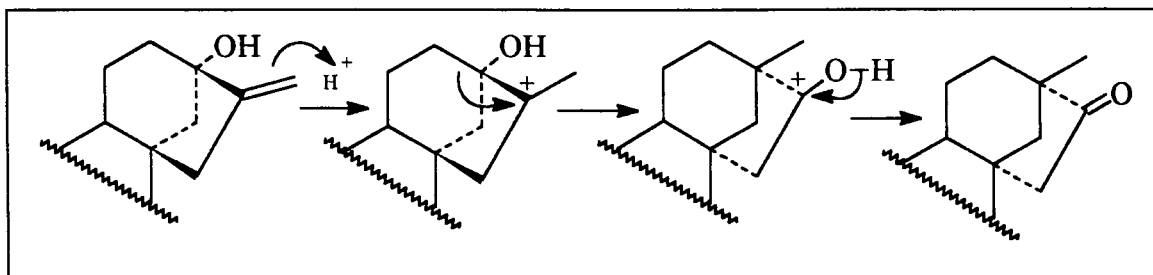


figura 3 REARRANJO DE WAGNER-MEERWEIN DO ANEL D DO ESTEVIOL

Os terpenos são uma classe de compostos os quais possuem como estrutura básica o esqueleto do isopreno. Os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno (5 carbonos)

5 carbonos - HEMITERPENO (isopreno)

10 carbonos - TERPENO

15 carbonos - SESQUITERPENO

20 carbonos - DITERPENO

25 carbonos - SÉSTERPENO

30 carbonos - TRITERPENO

40 carbonos - QUADRITERPENO

Os diterpenos por sua vez classificam-se em; bicíclicos, tricíclicos, tetracíclicos e macrocíclicos (J. R. Hanson. , 1971).

Dentre os diterpenos existe uma variedade de grupos estruturais e funções, as quais têm sido objeto de muitos estudos. Os diterpenos apresentam uma grande variedade de atividades biológicas, tais como anti inflamatório e inibidores de tumor (Kubota, T., Kubo, I., 1969) (Fujita E., 1984) (Ke Chen, et. al. 1992) (Node, M., 1983). Os diterpenos constituem a maior parte das resinas das plantas, tendo funções como inibidores de desidratação e ataques biológicos. Alguns diterpenos derivados do manol e do esclareol encontram emprego na indústria de perfumaria (Hanson, J. R., 1971).

Existem diversos tipos de diterpenos com variados grupos funcionais e consequentemente com diversas características. Inúmeras pesquisas têm sido feitas em todo mundo utilizando plantas empregadas na medicina popular, das quais diterpenos tetracíclicos têm sido reconhecidos como responsáveis pelas atividades biológicas.

I. 1 - OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo a síntese de derivados do esteviosídeo, visto que a revisão bibliográfica mostra que os diterpenos tetracíclicos que possuem uma α -metileno ciclopentanona possuem atividades biológicas de grande interesse, tais como: efeito anti inflamatório, anti-hipertensivo, controle de pragas, tratamento de bronquite, diarreia, anti-HIV, e outros. Também apresentam atividades biológicas os diterpenos que possuem funções hidroxila, epoxi, cetona, amina, e outras, como será mostrado na revisão bibliográfica.

A proposta deste trabalho é a obtenção de derivados do esteviosídeo com várias funções químicas, tais como: hidroxila, epoxi, ciclopropano, pirazolina, α -metileno ciclopentanona, etc., conforme esquema que se segue:

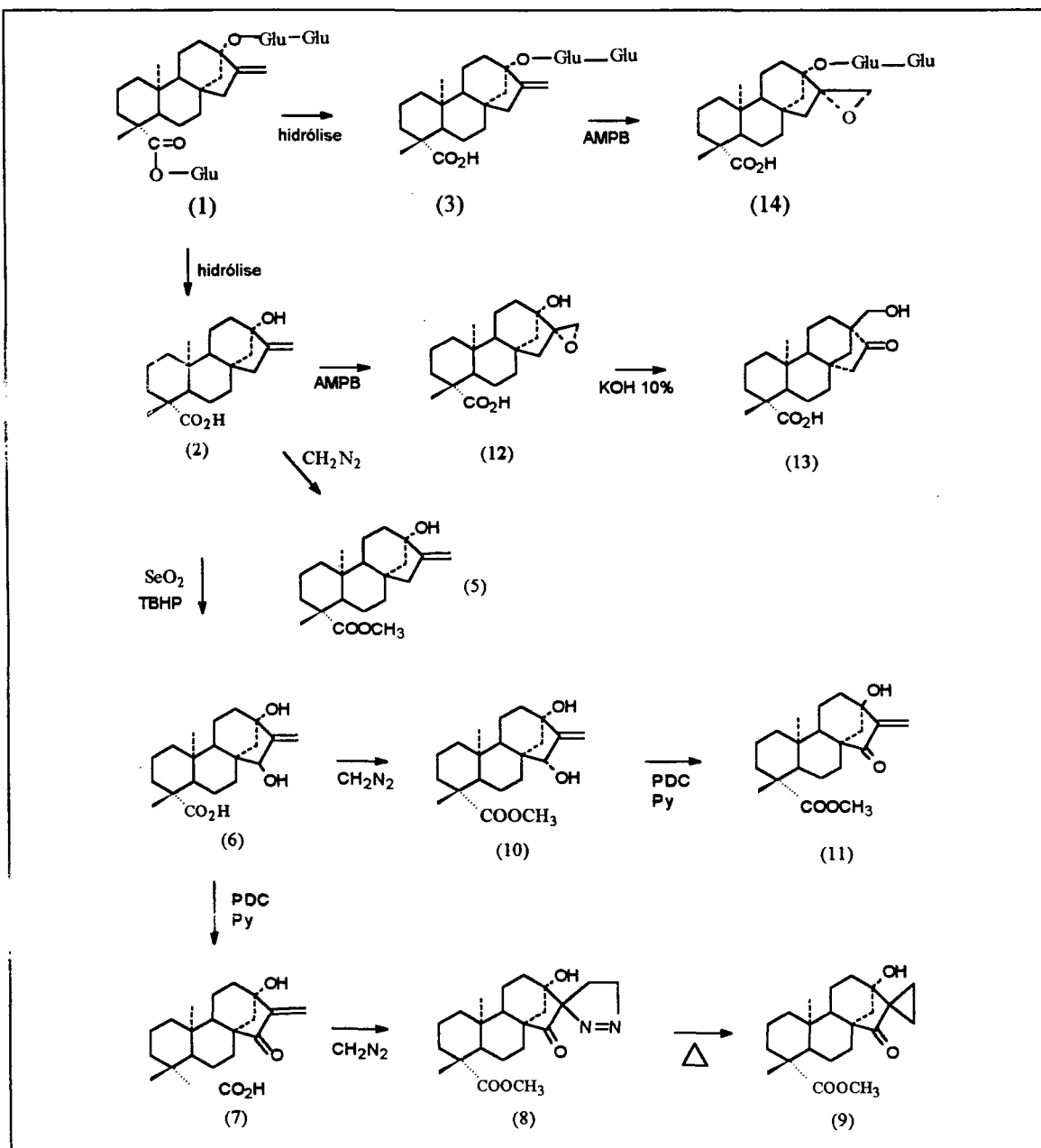


figura 5. ROTA SINTÉTICA DOS PRODUTOS OBTIDOS

I.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No Japão estudos realizados por Fujita e colaboradores em diterpenos isolados da *Rabdosia rubescens*, uma planta utilizada na medicina popular da China contra o câncer no esôfago, demonstraram que os diterpenos oridonina (15) e lasiocaurina (16), são os responsáveis pela atividade anti tumoral (Fujita, E., 1976; Fujita, E., 1984).

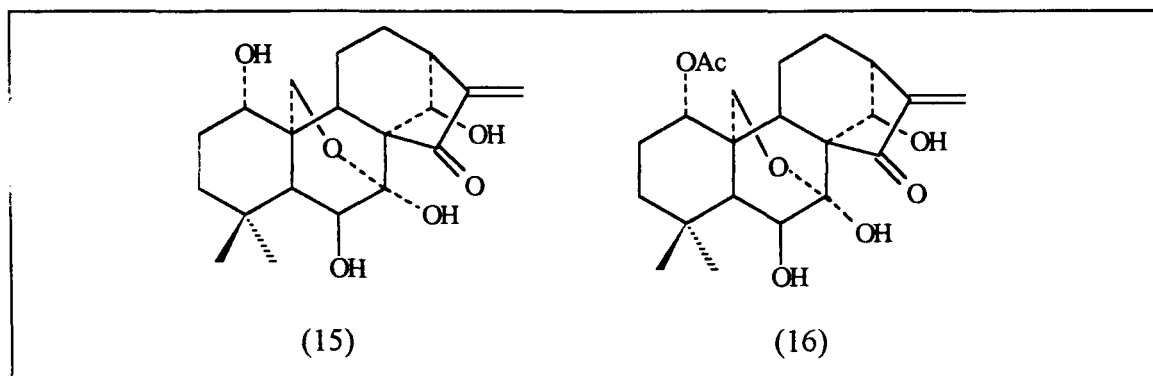


figura 6 .ORIDONINA(15) E LASIOCAURINA(16).

Também foram extraídos da *Rabdosia rubescens* dois outros compostos muito parecidos com a oridonina (15) e a lasiocaurina (16), a dihidro-oridonina (17) e butanotiol-oridonina (18), diferenciando-se dos dois primeiros compostos por não possuírem a α -metileno ciclopentanona. Contudo mostraram-se ineficazes nos testes de atividade anti-tumoral (Fujita, E., 1984).

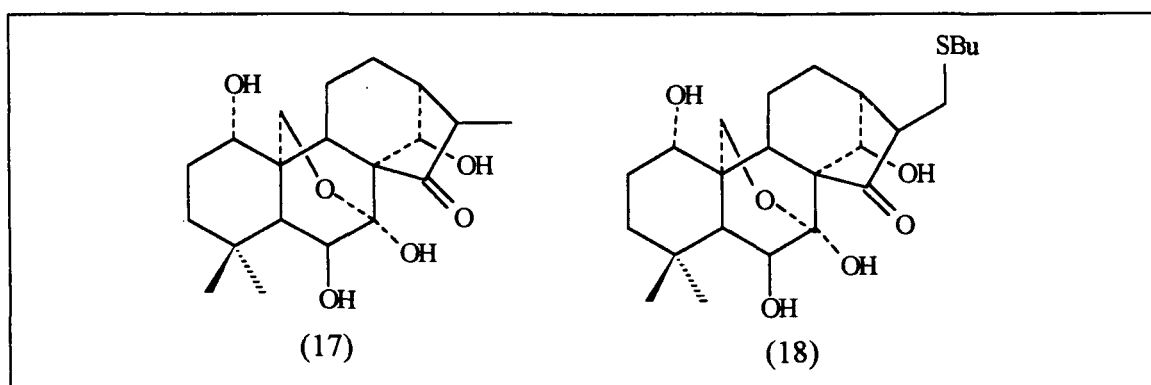


figura7. DI HIDRO-ORIDONINA (17) E BUTANOTIOL-ORIDONINA (18)

Com base na comparação de diversos diterpenos estudados, a equipe de Fujita concluiu que atividade anti-tumoral pode ser atribuída à (Kubota, T., Kubo, I., 1969) (Fujita E., 1984) (Renuka, M., 1981):

- 1) presença de α -metileno ciclopentanona
- 2) alguns grupos hidroxila localizados em determinadas posições possibilitando ligarem-se a uma enzima especial que está presente nas células cancerosas estudadas.
- 3) ligações de hidrogênio devido a eletroafinidade com o metileno.

Desde os anos sessenta tem sido reconhecido os efeitos anti tumoral e anti inflamatório de uma planta do sul da China, a *Tripterigium wilfordii* Hook. Esta planta era utilizada inicialmente como pesticida, devido a sua grande toxidez. Posteriormente extratos alcoólicos demonstraram significativos efeitos anti inflamatório e anti tumoral. Estes efeitos foram atribuídos ao tripdeolídeo (19). Da mesma planta também foi extraído a tripterfordina (20), à qual foram atribuídos efeitos anti-HIV (Ke Chen, 1992).

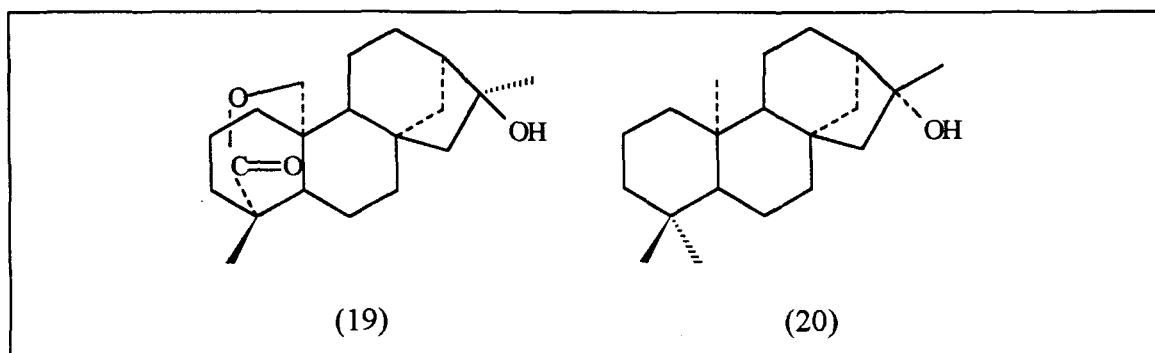


figura 8. TRIPDEOLÍDEO(19) E TRIPTERFORDINA(20)

Os estudos realizados na Universidade Kinski em Osaka, Japão mostraram que diterpenos tetracíclicos com α -metileno ciclopentanona extraídos da *Rabdosia rubescens*, oridonina (15), e diterpenos extraídos da *Stevia rebaudiana*, esteviol (2) e isoesteviol (4), têm atividades biológicas em mitocôndrias, na NADH-oxidase e na ADP fosforilase, testadas em larvas de *lipidopteras*. Como resultado desta atividade há nas mitocôndrias efeito inibidor de alimentação nas larvas, o que permite um controle de pragas (Vignais, P. V., 1966) (Tanigushi, M., 1979) (Pezzuto, J., 1986).

Em Kioto no Japão um diterpeno tetracíclico isolado da *Rabdosia tricocarpa* Hara, longicaureno (21), possui uma α -metileno ciclopentanona, o que demonstrou ser o responsável pela atividade anti tumoral por eles estudadas (Node, M., 1983).

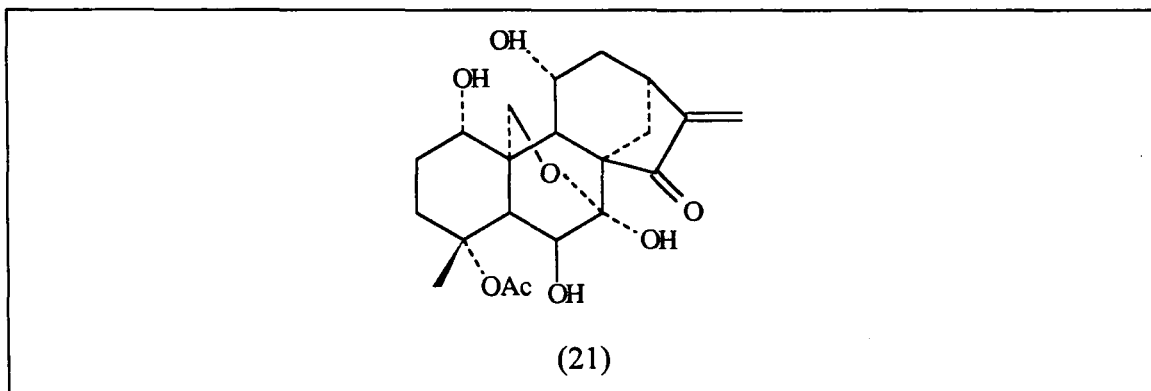


figura 9. LONGICAURENO(21).

Os trabalhos de Kubota e colaboradores demonstraram que é essencial para a atividade anti bacteriana a presença de α -metileno ciclopentanona no diterpeno tetracíclico por eles estudados. Segundo este pesquisador a atividade anti bacteriana é atribuída a uma reação de adição do tipo Michael que ocorre com a α -metileno ciclopentanona do composto testado e uma sulfidril contida na enzima (Kubo, I. M., 1974) (Fujita, E., 1984).

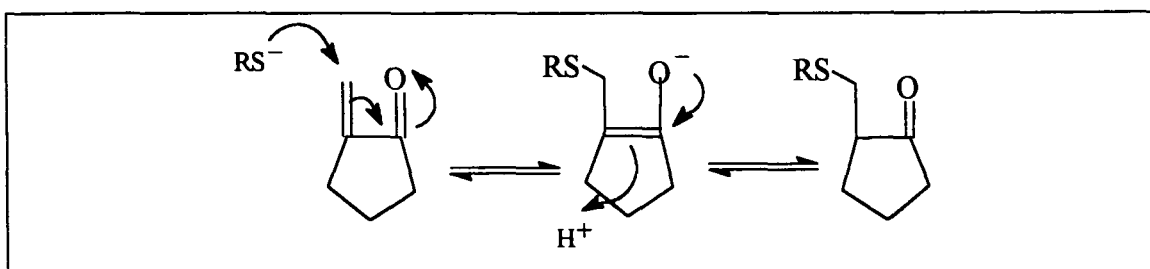


figura 10. ADIÇÃO DO TIPO MICHAEL À ENZIMAS SULFÍDRICAS

Dois outros diterpenos tetracíclicos que apresentam efeito anti inflamatório e anti-reumático, utilizados na medicina popular da Korea, foram isolados da planta *Arália continentalis*, o ácido 15-en-cauren-19-óico (22) e o ácido 16-en-cauren-19-óico (23).

Ambos compostos demonstraram-se mais eficientes que a fenilbutazona em testes com edema induzido por carragenina (Kosela, S., et. al., 1986).

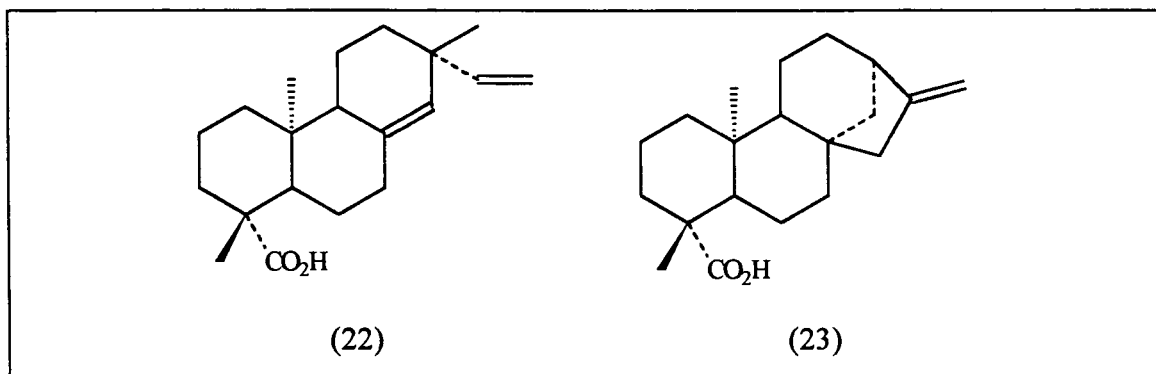


figura 11. ÁCIDO CAUR-8,15-DI EN -19-ÓICO(22) E ÁCIDO CAUR-16-EN-19-ÓICO(23)

A *Xilopia aethiopica* Dunal, é empregada no tratamento de bronquite e diarreia em Ghana, África. O ácido xilópico (24) é o princípio ativo isolado da planta (Boakye-Yiadom, K., 1977).

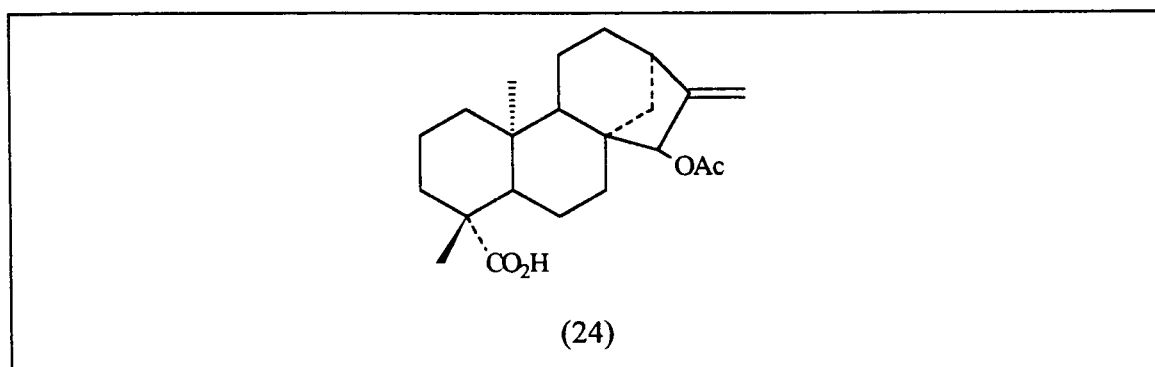


figura 12. ÁCIDO XILÓPICO(24)

A *Aster ageratoides* Turcz, é uma planta utilizada na medicina popular da China, e os compostos 16- β ,17-dihidróxi-caur-19-oato de β D-glucopiranosil (25), 16- β -hidróxi-17-glucose-caur-19-oato de β D-glucopiuranosil (26) e ácido 16,17-dihidroxi-caur-19-óico (27), foram isolados e determinados como os responsáveis pelas atividades biológicas nos tratamentos de bronquite, como expectorante, tratamento de febre, picada de abelha e mordida de cobra (Cheng, D. L., et. al., 1993).

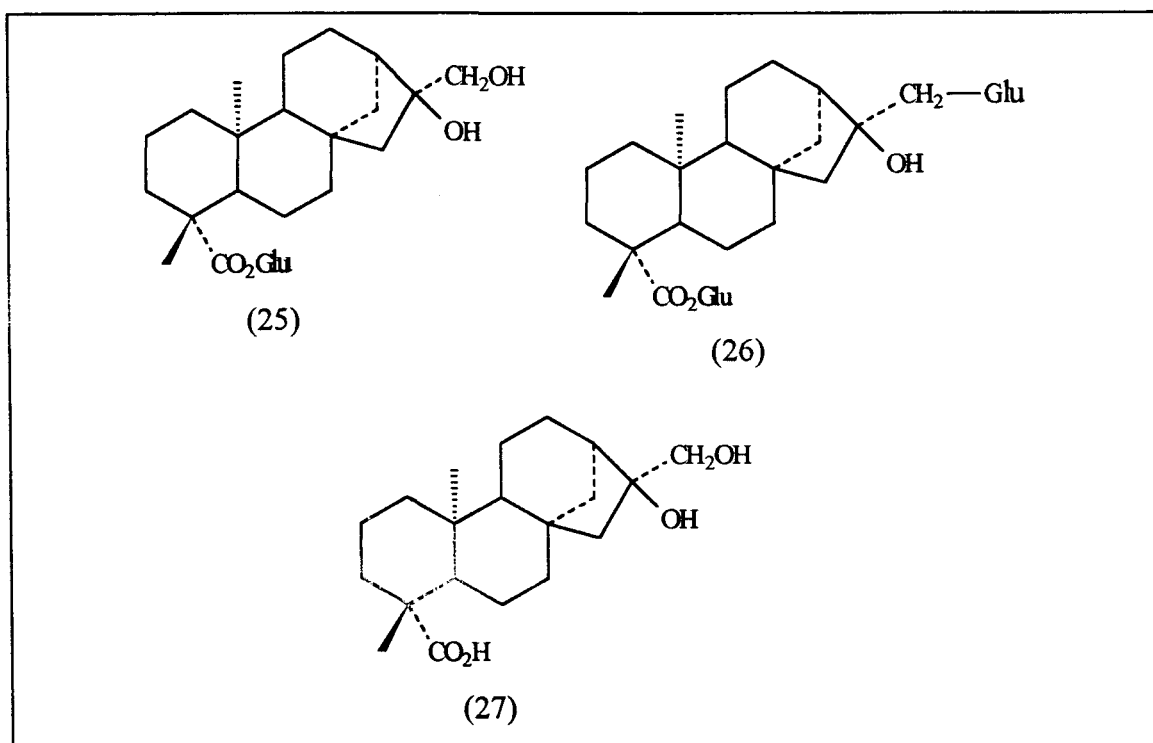


figura 13. 16 β ,17-DIHDROXI-CAUR-19-OATO DE D-GLUCOPIRANOSIL (25)
16 β -HIDROXI-17-GLUCOSE-CAUR-19-OATO DE D-GLUCOPIRANOSIL (26)
ÁCIDO-16,17-DIHDROXI-CAUR-19-ÓICO(27)

Extraído da *Wedelia chinesis* Merril, uma planta da medicina popular de Taiwan empregada no tratamento da hepatite, o ácido caur-16-en-19-óico (23) foi caracterizado como responsável por esta atividade (Ling-Ling Yang, 1986).

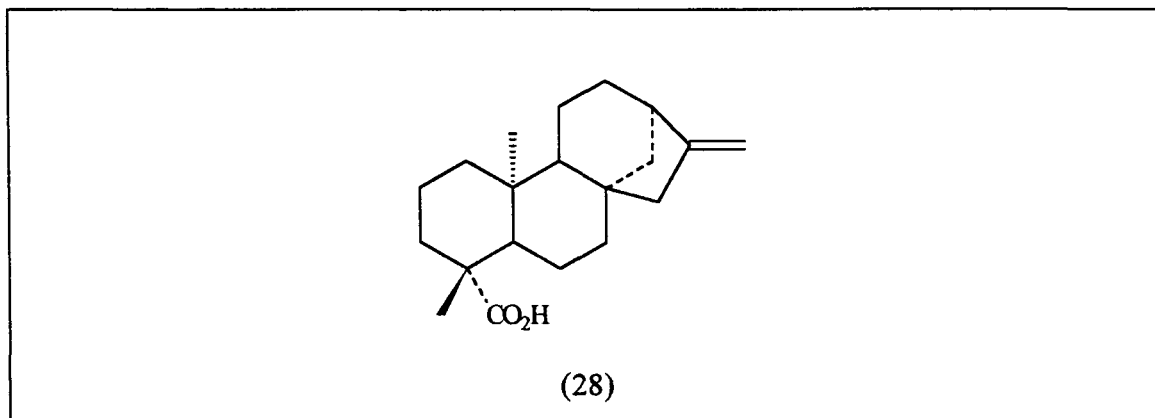


figura 14. ÁCIDO CAUR-16-EN-19-ÓICO (23)

A planta *Siegesbeckia pubescens* Makino, chamada de Hi-cheom na Korea, é utilizada pela medicina popular daquele país no tratamento de hipertensão e como anti-inflamatório. O composto isolado responsável pelas atividades biológicas foi o ácido 16,17-dihidroxi-caur-19-óico (27) (Koo Dong Han, 1975).

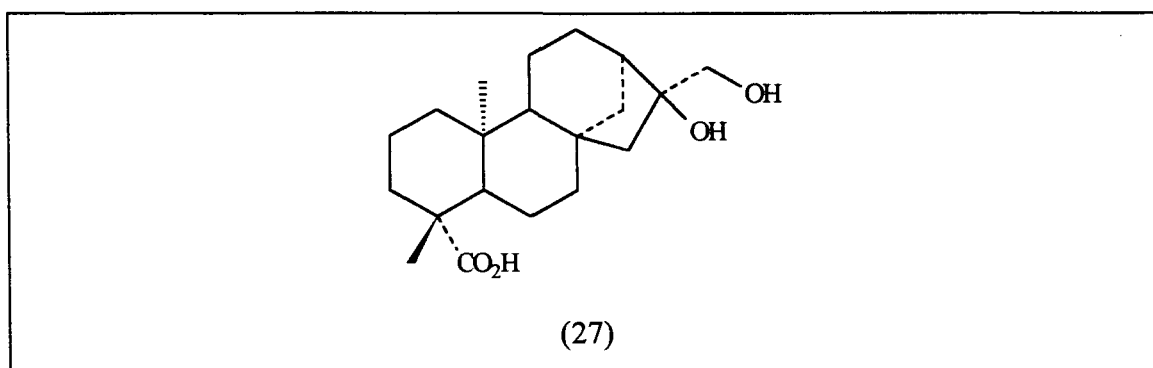


figura 15. ÁCIDO-16,17-DI-HIDROXI-CAUR-19-ÓICO(27)

A planta *Sideritis pusilla* Lange é utilizada pela medicina popular da Espanha devido às suas propriedades anti inflamatória, anti reumática e digestiva. Os estudos realizados com esta planta mostram que suas atividades estão relacionadas à diterpenos tetracíclicos poli hidroxilados presentes em seu extrato (Rodriguez-Linde, M. E., 1994).

Os estudos realizados por Taniguchi e colaboradores em diterpenos extraídos da *Isodon* Labiatae, mostram que a presença da α -metileno ciclopentanona em sua estrutura é essencial para a sua atividade biológica de anti alimentação e inibitória do crescimento nas larvas *Spodotera exempta* utilizadas em seus estudos (Taniguchi, M., 1979).

Com base nestes trabalhos aqui citados acredita-se que o esteviol e seus derivados, por serem também diterpenos tetracíclicos com α -metileno ciclopentano e possuírem hidroxilas em sua estrutura, tenham grandes possibilidades de possuir atividades biológicas, tal qual os semelhantes diterpenos mencionados anteriormente.

II - MATERIAIS E MÉTODOS

II-1 MATERIAIS

As análises no infravermelho foram executadas em espectrofotômetro BOMEM série MB. As amostras foram preparadas em pastilhas de brometo de potássio anidro.

As análises de ressonância magnética nuclear foram realizadas em espectrômetro BRUCKER AC 80, AC 200 F e GEMINI 200. As amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado, exceto a amostra de esteviolbiosídeo epóxido, a qual foi dissolvida em metanol deuterado.

As cromatografias em camada delgada foram feitas em placas 20X20 cm da MERCK Darmstad Germany, e a revelação com solução de etanol e ácido sulfúrico, 1:1 e aquecimento com pistola de jato de ar quente.

As cromatografias em coluna foram feitas com sílica 230-400 Mesh Tyler da MERCK Darmstad Germany. As eluições foram feitas com solventes purificados, bem como também foram purificados os demais solventes utilizados durante as reações e extrações dos produtos.

A hidrólise do esteviosídeo foi feita em encubodor automático ÈTICA com controlador de temperatura.

II-2 MÉTODOS

2.1- PREPARAÇÃO DO ESTEVIOL (ácido 13 α -hidroxi-caur-16-en -19-óico)(2)

Hidrólise Enzimática

Foi dissolvido esteviosídeo(1) (25 g, 31,1 mmol) em dois litros de solução tampão pH 4 e acrescentada enzima pectinase (2 ml). A solução foi distribuída em dez frascos Erlenmeyers de 1000 ml e estes colocados em um agitador-incubador a uma temperatura de 36°C por um período inicial de sete dias. O produto foi extraído com acetato de etila e à solução aquosa foi acrescido mais pectinase (1 ml) e novamente encubado por mais quinze dias, para garantir total reação do esteviosídeo. Após este período foi novamente extraído o esteviol hidrolizado. Foi retirada a umidade da solução orgânica com sulfato de sódio anidro, em seguida filtrado e levado à secura em evaporador rotativo. O esteviol foi recristalizado em metanol. Foram obtidos 7,95g (25,0 mmol) de esteviol, com um rendimento de 80,4%.

FM: C₂₀H₃₀O₃, MM.: 318,44

PF: 214-215 °C, (212-213, THE MERCK INDEX)

I.V. λ máx 3452, 3150-2700 e 1690 cm⁻¹.

Hidrólise Química

Foi pesado esteviosídeo(1) (25g, 31,1 mmol) e dissolvido em solução aquosa 20% de iodato de sódio (400 ml). Após 24 horas de agitação à temperatura ambiente foi adicionado hidróxido de sódio (37,5 g) e a mistura foi então deixada sob refluxo por uma hora. Lentamente foi adicionado solução de ácido acético 50 % até pH 4 e o esteviol formado foi extraído com acetato de etila. Foi retirada a umidade da solução orgânica com sulfato de sódio anidro, em seguida filtrada e levada à secura em evaporador rotativo. A recristalização do produto foi feita com metanol obtendo-se 3,57 g (11,2 mmol) de esteviol, com um rendimento de 36,1%.

I.V. λ máx 3450, 3150-2700 e 1690 cm⁻¹

Esterificação do esteviol à esteviol ester metílico (13 α -hidroxi-caurenoato-16-en-19-metila)(5).

Foi dissolvido esteviol(2) (500 mg, 1,57 mmol) em éter etílico (15 ml) e acrescentado solução etérea de diazometano (30 ml). Após várias adições de diazometano a solução etérea manteve uma coloração amarelada, indicando que todo o esteviol(2) havia reagido e portanto o excesso de diazometano marca o término da reação. Foi evaporado o diazometano remanescente bem como o éter etílico, posteriormente o produto foi recristalizado em metanol. O rendimento da reação foi de 96,8 %, obtendo-se 505,3 g de produto.

FM: C₂₁H₃₂O₃, MM: 332,46

P.F. 111-113 °C, (108-110 °C, THE MERCK INDEX)

I.V.λ máx 3452-2915, 1733, 1719, 1708 cm⁻¹

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ :0,80 (3H, s, H-20), 1,15 (3H, s, H-18),
3,65 (3H, s, COOMe), 4,76 (1H, s, Ha-17), 4,99 (1H, s, Hb-17)

Solução etérea de diazometano

Foi dissolvido hidróxido de potássio (10 g) em água destilada (15 ml) e acrescentado etanol 96GL (50 ml). A solução alcoólica foi colocada em um balão com saída lateral e aquecido a uma temperatura de 65° C. Gotejou-se sobre a solução alcoólica quente uma solução 10% de diazald (CH₃C₆H₄SO₂N(CH₃)NO) em éter etílico (250 ml). O gás diazometano produzido foi dissolvido no éter etílico, o qual foi condensado em banho de gelo.

2.2 - PREPARAÇÃO DO 15-HIDROXI-ESTEVIOL (ácido 13 α ,15 β -di hidroxicaur -16-en -19-óico)(6).

Foi pesado esteviol(2) (500 mg, 1,57 mmol) e dissolvido em solução 1:1 dioxano \ água (100 ml). Acrescentou-se dióxido de selênio (30 mg, 270 mmol) e solução 3,9 M de hidroperóxido de *t*-butila em tolueno (1 ml). Após 24 horas de agitação em banho térmico à 55° C o 15-hidroxi-esteviol(6) produzido foi prescิปtado com a adição de água destilada gelada (100 ml) onde o produto prescิปitou e em seguida foi filtrado. O 15-hidróxi-esteviol(6) foi recristalizado em etanol e o rendimento da reação foi de 60,1%, obtendo-se 315 mg (0,941 mmol) do produto. O produto foi purificado em coluna de sílica 400 mesh, utilizando-se como eluente solução de acetato de etila \ éter de petróleo, 2:8.

FM: C₂₀H₃₀O₄, MM: 334,44

PF: 269-272 °C (271-273 °C, THE MERCK INDEX)

I.V.λ máx 3480-3415, 2930, 1697 cm⁻¹

O 15-hidroxi-esteviol ester metílico(10) foi preparado dissolvendo-se 15-hidroxi-esteviol(6) (900 mg) em éter etílico (90 ml) e adicionado-se seguidas vezes solução etérea de diazometano até que a coloração da solução permanecesse amarelada, indicando assim que todo 15-hidroxi-esteviol havia reagido. Evaporou-se o excesso de diazometano não reagido, bem como o éter etílico e em seguida o produto foi recristalizado em etanol. O rendimento da reação foi de aproximadamente 100%.

FM: C₂₁H₃₂O₄ MM: 348,46, PF: 146-148 °C

I.V.λ máx 3330-2917, 1732, 1720, 1458 cm⁻¹

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 0,77 (3H, s, H-20), 1,15 (3H, s, H-18), 1,55 (2H, s, H-14 β), 2,10 (2H, s, H14 α), 3,59 (3H, s, OMe), 5,19 (1H, s, Ha-17), 5,26 (1H, s, Hb-17).

2.3 - PREPARAÇÃO DO 15-CETO-ESTEVIOL (ácido 13 α -hidroxi-15-oxo-caur-16-en-19-óico)(7).

Foi pesado 15-hidroxi-esteviol(6) (500 mg, 1,50 mmol) e dissolvido em piridina (10 ml). A essa solução foi acrescentado dicromato de piridínio (750 mg, 3,48 mmol), o qual reagiu por 24 horas à temperatura ambiente. Acrescentou-se acetato de etila (100 ml) e filtrou-se a mistura. O filtrado foi lavado com acetato de etila (30 ml) e ao filtrado contendo o produto foi adicionado solução de ácido colídrico 1% (50 ml) para eliminar o excesso de piridina. A piridina restante na solução orgânica foi extraída com água destilada (10 ml) por três vezes. A fase orgânica foi levada à secura em evaporador rotativo e o produto foi recristalizado em metanol. O rendimento da reação foi de 58,5%, obtendo-se 229 mg. (0,690 mmol) de produto. O 15-ceto-esteviol(7) foi purificado em coluna de sílica 400 mesh utilizando-se como eluente solução de acetato de etila \ éter de petróleo, 2:8.

FM: C₂₀H₂₈O₄, MM:332,44

PF: 213-215 °C, (216-218 °C, THE MERCK INDEX)

I.V. λ máx 3464, 2941, 1716, 1455 cm⁻¹

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 0,95 (3H ,s, H-20), 1,19 (3H ,s, H-18), 5,39 (1H, s, Ha-17), 5,90 (1H, s, Hb-17).

2.4 - PREPERAÇÃO DO 15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO (13 α -hidroxi-15-oxo-caurenoato-16-en-19-metila)(11).

Foi pesado 15-hidroxi-esteviol ester metílico(10) (300 mg, 0,861 mmol) e dissolvido em piridina (10 ml). A essa solução foi adicionado dicromato de piridina (450 mg, 2,09 mmol) e deixado em repouso por 24 horas. Ao final desse tempo acrescentou-se acetato de etila (50 ml) e filtrou-se. O filtrado foi lavado com acetato de etila (30 ml) e ao filtrante adicionados solução de ácido clorídrico 1% (30 ml) para eliminação da piridina. Separada a fase orgânica por decantação, foi retirada a umidade da solução com sulfato de sódio anidro, filtrada e levada à secura em evaporador rotativo. O produto foi recristalizado em metanol e o rendimento da reação foi de 55,8%, obtendo-se 166 mg (0,479 mmol) de produto. O 15-ceto-esteviol ester metílico(11) obtido foi purificado em coluna cromatográfica contendo sílica 400 mesh e utilizado como eluente solução de acetato de etila \ éter de petróleo, 3:7.

FM: C₂₁H₃₀O₄, MM: 346,46 , PF: 135-138 °C

I.V. λ máx 3505-3470, 2940-2850, 1724 , 1713, 1459cm⁻¹.

2.5 - PREPARAÇÃO DO 16,22-DIAZO-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO (13 α -hidroxi-15-oxo-16,22-diazo-caurenoato-19-metila)(8).

Dissolveu-se 15-ceto-esteviol(7) (500 mg, 1,50 mmol) em éter etílico (10 ml) e foram acrescentadas seguidas vezes solução etérea de diazometano até que a solução mantivesse uma coloração amarelada, indicando que todo 15-ceto-esteviol(7) havia reagido. Evaporou-se o excesso de diazometano e éter etílico e por fim o produto foi recristalizado em metanol. O rendimento da reação foi de 91,6 %, obtendo-se 535 mg (1,38 mmol) de produto. Foi realizada purificação em coluna de sílica 400 mesh e utilizado como eluente solução de acetato de etila \ éter de petróleo, 2:8.

FM: C₂₂H₃₂O₄N₂, MM: 388,49, PF: 178-180 °C

I.V. λ máx 3400-2950, 2865, 1742, 1724, 1557 cm⁻¹

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 0,95 (3H, s, H-20), 1,20 (3H, s, H-18), 2,80 (2H, m, H-17), 3,67 (3H, s, OMe), 4,75 (2H, m, H-22)

2.6 - PREPARAÇÃO DO 16-CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO (13 α -hidroxi-15-oxo-16-ciclopropil-caurenoato-19-metila)(9).

Foi pesado 16,22-diazo-15-ceto-esteviol ester metílico(8) (240 mg, 0,618 mmol) e dissolvido em tolueno (10 ml). Colocou-se sob refluxo por 4 horas e acrescentou-se água destilada (30 ml) para precipitar o produto. O produto foi então filtrado e por fim recristalizado em acetato de etila. O rendimento da reação foi de 43,1 %, obtendo-se 96 mg (0,266 mmol) de produto. O produto foi purificado em coluna com sílica 400 mesh e utilizado como eluente solução de acetato de etila \ éter de petróleo, 1:1.

FM: C₂₀H₃₀O₄, MM: 360,49, PF: 121-125 °C

I.V. λ máx 3450, 2916-2800, 1721 cm⁻¹,

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 0,88 (4H, s, H-17, H-22), 0,91 (3H, s, H-20), 1,19 (3H, s, H-18), 3,60 (3H, s, OMe).

2.7 - PREPARAÇÃO DO 16,17 α -EPOXI-ESTEVIOL (ácido-13 α -hidroxi-16,17 α -epoxi-caur-19-óico)(12).

Foi pesado esteviol(2) (500 mg, 1,57 mmol) e dissolvido em diclorometano (30 ml). A essa solução foi acrescentado ácido *m*-cloro perbenzóico (280 mg, 1,62 mmol) e deixado reagir por 72 horas a temperatura ambiente. Decorrido esse tempo foi adicionada solução de metabissulfito de sódio 10% (60 ml) para reagir com o ácido *m*-cloro perbenzóico em excesso formando ácido benzóico, o qual tem boa solubilidade em água. A solução foi decantada e a ela adicionado diclorometano (100 ml). A fase orgânica foi lavada com solução tampão pH 7,4, para retirar o ácido benzóico restante e novamente decantada. Por fim retirou-se a umidade da solução com sulfato de sódio anidro. O produto foi recristalizado em acetato de etila e o rendimento da reação foi de 79,8 %, obtendo-se 399mg (1,19 mmol). O produto foi purificado em coluna cromatográfica com sílica 400 mesh e utilizado como eluente solução de acetato de etila \ éter de petróleo, 3:7.

FM: C₂₀H₃₀O₄

MM: 334,44

PF: 193-195 °C (197-199 °C, THE MERCK INDEX).

I.V. λ máx 2924, 1766, 1711, 1216 cm⁻¹.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 0,96 (3H, s, H-20), 1,24 (3H, s, H-18),

2,37 (1H, sl, OH), 2,78 (1H, d, Ha-17, Ja,b=4,40 Hz), 2,92 (1H, d, Hb-17, Ja,b=4,41 Hz).

2.8 - PREPARAÇÃO DO 17-HIDROXI-ISOESTEVIOL (ácido 17-hidroxi--19-óico-baierano)(13).

Foi dissolvido 16,17 α -epoxi-esteviol(12) (300 mg, 0,897 mmol) em álcool etílico (30 ml). A essa solução foi acrescentado solução de ácido clorídrico 0,5% (30 ml) e deixado por 8 horas à uma temperatura de 8° C . Retirou-se grande parte do etanol em evaporador rotativo e foi acrescentado acetato de etila (150 ml). A solução orgânica foi lavada com água destilada (50 ml) por três vezes e decantada. Retirou-se a umidade da fase orgânica com sulfato de sódio anidro e levou-se a secura em evaporador rotativo. A reação foi feita com acetato de etila e o rendimento da reação foi de 40,6%, obtendo-se 121mg (0,363 mmol) de produto. A purificação foi realizada em coluna de sílica 400 mesh e utilizado como eluente solução de acetato de etila \ éter de petróleo, 3:7.

FM: C₂₀H₂₉O₄, MM: 333,44, PF: 225-226 °C.

I.V.λ máx 3475, 2900-2750, 1725 cm⁻¹

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃):δ 0,80 (3H, s, H-20), 1,26 (3H, s, H-182), 3,55 (1H, d, Ha-17, Ja,b=11,40Hz), 3,65 (1H, s, Hb-17, Ja,b=11,40 Hz).

2.9 - PREPARAÇÃO DO ESTEVIOLBIOSÍDEO. (Ácido 13 α -di glucose-caur-16-en-19-óico)(3).

Esteviolbiosídeo(1) (13 g, 16,2 mmol) e dissolvido em hidróxido de potássio em peso (330 ml). Após uma hora de refluxo foi lentamente acidificado com ácido acético glacial até pH 5. O esteviolbiosídeo(3) precipitou e foi então filtrado. Foi redissolvido em metanol, filtrado novamente e por fim recristalizado em etanol. O rendimento da reação foi de 50,6 %, com a obtenção de 5,42 g (8,29 mmol) de produto.

F.M. C₃₃H₄₉O₁₃, MM:653,76, PF: 339-343 °C

I.V.λ máx :3470-3150, 2900-2750, 1150 cm⁻¹

2.10 -PREPARAÇÃO DO 16,17 α -EPOXI-ESTEVIOLBIOSÍDEO.(ácido 13 α -di glucose-16,17-epoxi-caur-19-óico)(14).

Foi pesado esteviolbiosídeo(3) (500 mg, 0,765 mmol) e dissolvido em dioxano (50 ml). Acrescentou-se ácido *m*-cloro perbenzóico (250 mg, 1,54 mmol), o qual reagiu à temperatura ambiente por 72 horas. Após esse período foi adicionado solução 10 % de metabissulfito de sódio (20 ml) para reagir o excesso de ácido *m*-cloro perbenzóico à ácido benzóico, o qual tem boa solubilidade em água. Boa parte do dioxano foi retirado em evaporador rotativo e depois acrescentado eter de petróleo até precipitação do produto. O produto foi recristalizado em metanol, e através de coluna de cromatografia com sílica 400 mesh foi purificado. Para eluição foi utilizado solução de acetato de etila \ etanol \ água, 80:18:2. O rendimento da reação foi de 33,8%, onde obtive-se 173 mg (0,258 mmol) de produto.

FM: C₃₃H₄₉O₁₄, MM: 669,76, PF: 241-243 °C

I.V. λ máx3500, 2750, 1715, 1050, 1030 cm⁻¹

RMN ¹H (200 MHz, CD₃OD): δ 0,97 (3H, s, H-20), 1,19 (3H, s, H-18), 2,84 (1H, d, Ha-17, Ja,b=4,0)), 2,84 (1H, d, Hb-17, Ja,b=4,0).

III- RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 - ESTEVIOL(2) E ESTERVIOL ESTER METÍLICO(5).

A hidrólise enzimática do esteviosídeo (1) à esteviol (2) foi feita em solução tampão pH 4 por um período de sete dias à 36° C sob agitação. Após este período o esteviol foi extraído com acetato de etila.

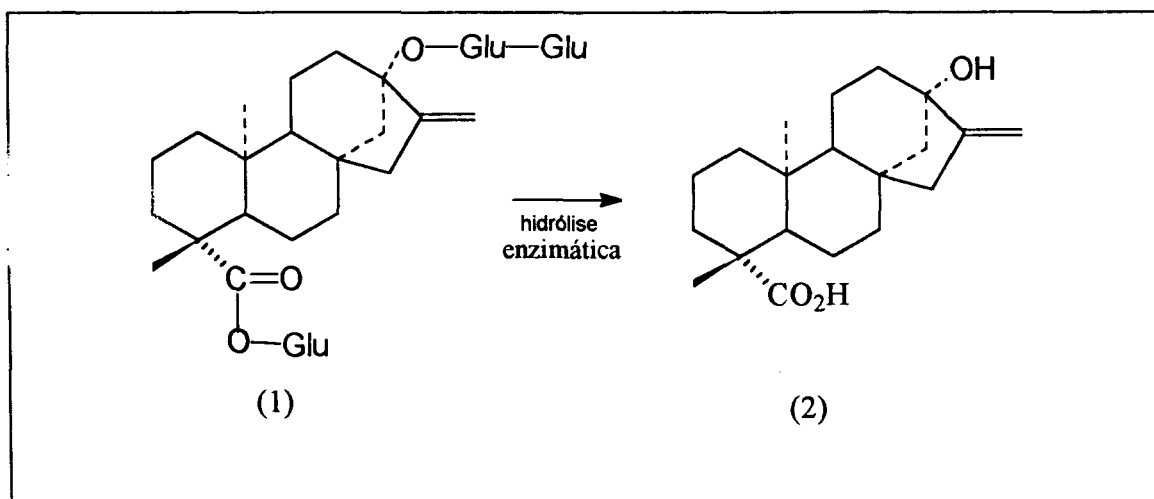


figura 16 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO ESTEVIOSÍDEO(1) À ESTEVIOL(2)

Em testes experimentais foi verificado que não ocorre hidrólise em pH 4,3 ou acima disto, ou seja, a enzima só atua em pH4. Normalmente uma hidrólise de glicosídeos é feita em meio ácido, contudo neste caso o esteviol é isomerizado à isoesteviol quando o pH está a baixo de 4.

A hidrólise química ocorre com a oxidação do esteviosídeo pelo periodato de sódio dando um hexaldeído (30), o qual refluxado em solução alcalina (KOH 10%), fornece o esteviol.

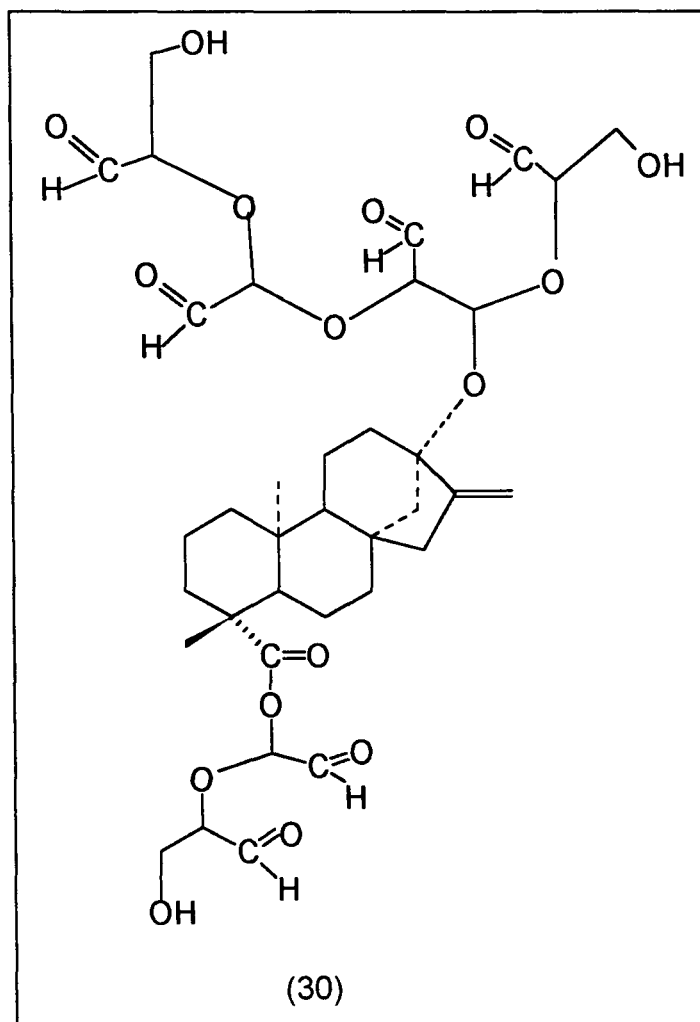


figura 17 ESTEVIOSÍDEO OXIDADO COM PERIODATO DE SÓDIO

Foi dada preferência à hidrólise enzimática pelo fato de obter-se maior rendimento e também porque a hidrólise por via química necessita de maiores cuidados como por exemplo; evitar exposição à luz, o que causa formação de I_2 , tempo prolongado de reação também aumenta a formação de I_2 e dificuldades na extração do esteviol formado.

O esteviol (2) é esterificado à esteviol metil ester (5) com solução etérea contendo diazometano.

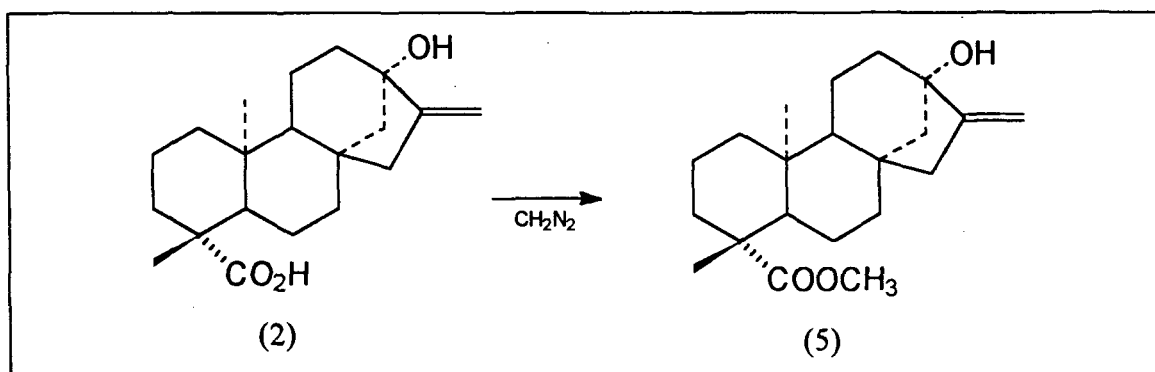


figura 18 ESTERIFICAÇÃO DO ESTEVIOL(2) À ESTEVIOL METIL ESTER(5)

O espectro no infravermelho (figura 31) mostra as bandas à 3452 e 3150 cm^{-1} de deformação axial de O-H e a deformação axial de C-H de metileno em 2915 cm^{-1} . As bandas em 1719 e 1708 cm^{-1} referente a deformação axial de carbono dupla oxigênio de ester, e carbono dupla carbono.

O espectro de RMN ^1H (figura 32) mostra ressonância à $\delta\ 3,65$ ppm de OMe, e em $\delta\ 4,76$ e $4,99$ ppm demonstram a presença de hidrogênios de olefina.

O espectro RMN ^{13}C mostra o pico em $\delta\ 177$ ppm da carbonila de ester e os picos referentes aos carbonos de olefina aparecem em $\delta\ 102$ e 156 ppm (carbonos 16 e 17) respectivamente.

Tabela I DADOS DOS ESPECTROS DE CARBONO 13 DO ESTEVIOL METIL ESTER DA LITERATURA E ESTEVIOL METIL ESTER(5)

carbono	esteviol ester metílico literatura (*)	esteviol ester metílico(5)
C 1	40,60	41,35
C 2	18,99	19,11
C 3	37,94	38,06
C 4	43,68	43,80
C 5	56,86	56,95
C 6	21,77	21,89
C 7	41,25	41,35
C 8	41,52	41,67
C 9	53,74	53,83
C 10	39,14	39,27
C 11	20,31	20,44
C 12	39,21	40,71
C 13	80,05	80,37
C 14	47,38	47,44
C 15	46,82	47,04
C 16	155,99	156,13
C 17	107,81	102,91
C 18	28,59	28,73
C 19	177,78	177,97
C 20	15,19	15,32
O Me	51,00	51,13

* (Oliveira , B. H., 1989)

2 - 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL (6) E 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(10).

O esteviol(2) é oxidado no carbono alílico formando 15-hidroxi-esteviol(6) em solução de dioxano e água (1:1), contendo hidroperóxido de *t*-butila e quantidade catalítica de dióxido de selênio. O produto foi extraído da solução com acetato de etila e recristalizado em etanol.

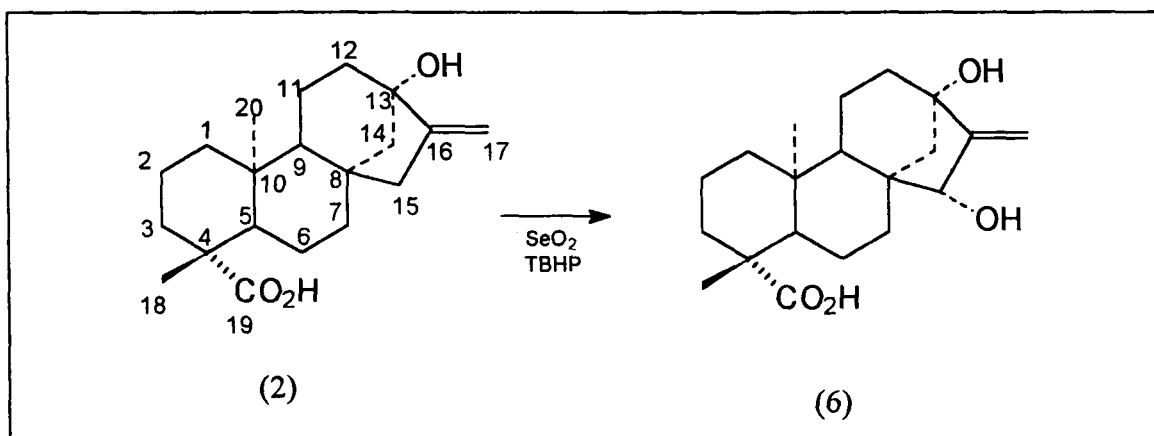


figura 19 OXIDAÇÃO DO CARBONO 15 DO ESTEVIOL(2) À 15 α -HIDROXI ESTEVIOL(6)

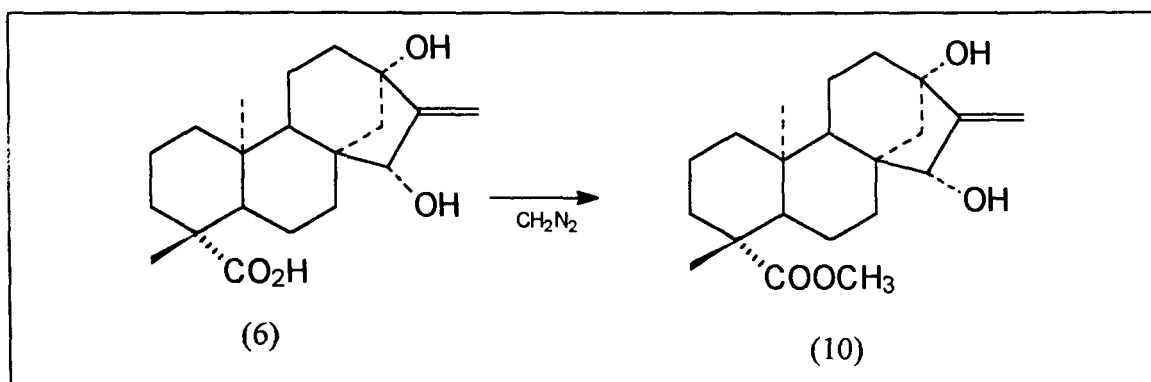


figura 20 ESTERIFICAÇÃO DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL(6) À 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(10)

Na retirada do produto do meio reacional (dioxano\água, 1:1) com acetato de etila, ocorre a solubilização de grande parte do dioxano na fase orgânica. Desta forma foi realizada a extração do produto com adição de água destilada gelada até precipitação do produto seguido de filtração e posterior recristalização em etanol.

O espectro no infravermelho (figura 34) mostra o alargamento da banda em 3330 cm^{-1} devido a presença de uma hidroxila. A formação de um álcool secundário é observada pela banda em 1458 cm^{-1} (figura 35) referente deformação angular fora do plano.

No espectro de RMN ^1H (figura 36) nota-se o deslocamento do sinal dos hidrogênios olefinicos para campo mais baixo devido a presença da hidroxila no carbono alílico.

É observado no espectro de RMN ^{13}C (figura 37) o surgimento de um sinal em δ 81,52 ppm que pode ser atribuído ao carbono 15 devido a presença da hidroxila.

3 - 15-CETO-ESTEVIOL (7) E 15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(11).

A obtenção do 15-ceto-esteviol (7) foi feita através da oxidação do 15 α -hidroxi-esteviol(6) com dicromato de piridínio em solução de piridina. A extração do produto foi feita com acetato de etila.

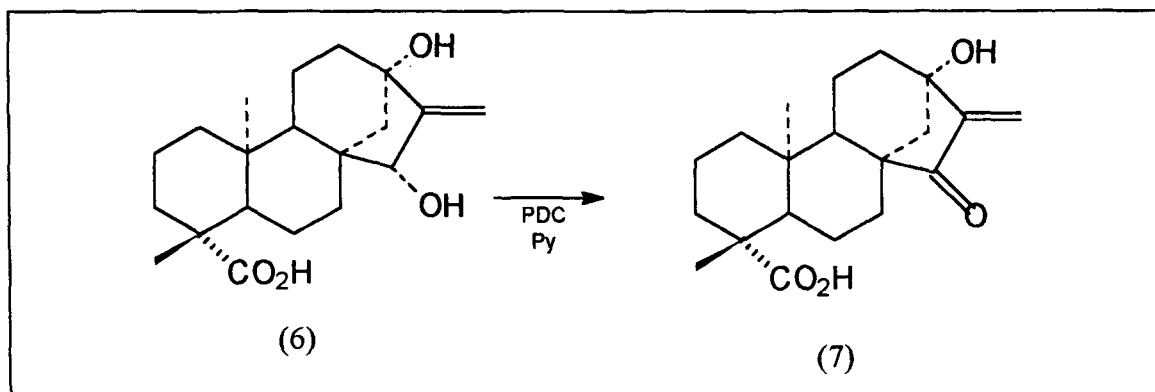


figura 21 OXIDAÇÃO DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL(6) À 15-CETO-ESTEVIOL(7)

A extração do 15-ceto-esteviol(7) é dificultada pelo fato do dicromato de piridínio ser parcialmente solúvel em acetato de etila e também pela solubilidade da piridina neste solvente. Desta forma foram feitas extrações da piridina e do dicromato que estavam solubilizados na fase orgânica, com água destilada. Devido a isto obteve-se um baixo rendimento da reação. Foram feitas tentativas de extração do cromato e dicromato solubilizados na fase orgânica através de solução de cloreto de bário, contudo a fase orgânica manteve-se amarelada indicando a presença do contaminante.

Fazendo-se reagir o 15 α -hidroxi-esteviol com dióxido de manganês sob refluxo em solução de tolueno, houve a formação de dois produtos e também não houve o consumo de todo material de partida.

Na tentativa de realização da reação de oxidação com dicromato de piridínio em diclorometano não obteve-se a formação do produto, mostrando assim que é fundamental a formação do ion dicromato para haver a reação.

Foi feita a reação de oxidação do esteviol(2) com dicromato de piridina em solução de piridina, na tentativa de obter-se uma oxidação direta do esteviol à 15-ceto-esteviol, ou outro produto de oxidação por este processo, contudo um número enorme de produtos foram formados inviabilizando assim este processo.

O 15-ceto-esteviol ester metílico(11) foi obtido através da oxidação do 15 α -hidroxi-esteviol ester metílico(10) com dicromato de piridínio em solução de piridina, não podendo ser feita uma oxidação do 15-ceto-esteviol(7) devido ao fato de que havendo uma cetona na posição alílica ocorre a formação da pirazolina.

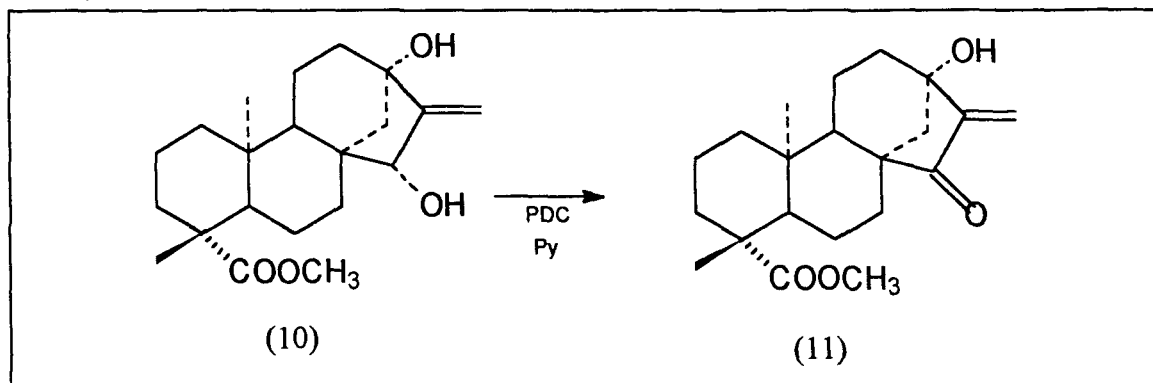


figura 22 OXIDAÇÃO DO 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(10) À 15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(11)

O espectro no infravermelho (figura 39) do 15-ceto-esteviol ester metílico(11) mostra bandas em 1724, 1713 e 1650 cm⁻¹ referentes à deformação axial de carbonila cetônica e carbonila de ester.

No espectro de RMN ¹H o deslocamento do sinal dos hidrogênios de olefinia para campo mais baixo em função da desblindagem provocada pela presença da cetona e o sinal dos hidrogênios do carbono 14 também aparecem em campo mais baixo em função da desblindagem provocada pelo cone anisotrópico da cetona.

No espectro de RMN ¹³C observa-se o surgimento de um sinal em δ 208 ppm pela formação da carbonila de cetona, o deslocamento do pico do C-8 para campo mais baixo em função da desblindagem provocada pela presença da carbonila cetônica no C-15.

4 - 16,22-DIAZO-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(8).

A obtenção do 16,22-diazo-15-ceto-esteviol ester metílico(8) foi feita através da esterificação do 15-ceto-esteviol(7) com a adição de diazometano em solução etérea ao 15-ceto-esteviol(7) dissolvido em éter etílico.

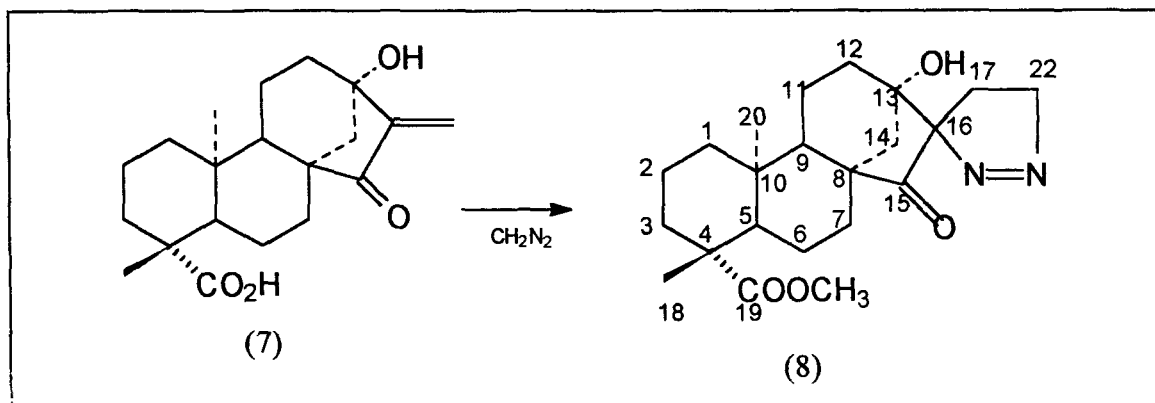


Figura 23 ESTERIFICAÇÃO E DIAZOTAÇÃO DO 15-CETO-ESTEVIOL(7) À 16,22-DIAZO-ESTEVIOL-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(8)

No espectro no infravermelho (figura 42) observa-se o surgimento da banda em 1525 cm^{-1} que pode ser atribuída a presença do grupo diazo à estrutura do composto.

É observado no espectro de RMN ^1H (figura 43) os sinais em δ 4,69, 4,71 e 4,74 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios $\text{CH}_2\text{-N=N}$ e outros em δ 2,77 e 2,79 ppm podem ser atribuídos aos hidrogênios $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N=N}$. Observa-se também a ausência dos picos de hidrogênio de olefina em torno de δ 5 ppm.

No espectro de RMN ^{13}C (figura 44) destaca-se o surgimento de sinais em δ 79,45 ppm e δ 20,36 ppm que podem ser atribuídos a $\text{CH}_2\text{-N=N}$ e $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-N=N}$, respectivamente.

5 - 16-CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(9).

A obtenção do 16-ciclopropil-15-ceto-esteviol ester metílico(9) foi feita através da eliminação de N_2 do 16,22-diazo-15-ceto-esteviol ester metílico(8) ao ser colocado em refluxo com tolueno.

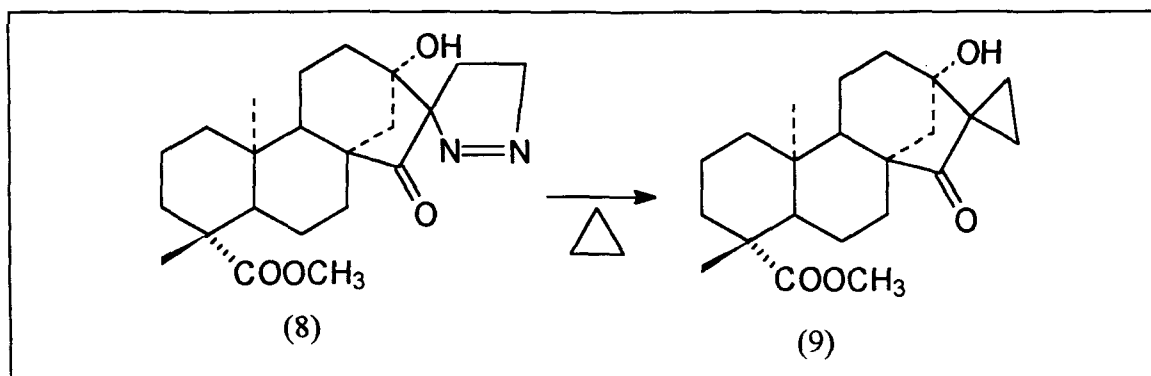


figura 24 CICLOPROPANAÇÃO DO 16,22-DIAZO-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(8) À 16-CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(9)

Na preparação do 16-ciclopropil-15-ceto-esteviol ester metílico(9) é obtido uma goma ao ser evaporado o tolueno. Tentativas de obter-se o 16-cilopropil-15-ceto-esteviol ester metílico(9) através de refluxo com outros solventes foram feitos, no entanto em nenhum solvente testado conseguiu-se obter o produto em forma de cristais.

No espectro no infravermelho (figura 45) observa-se a ausência da banda em 1525 cm^{-1} característica de $N=N$. A banda em 3450 cm^{-1} é relativa a deformação axial de O-H. Em 1721 cm^{-1} observa-se a banda relativa a carbonila de ester.

O espectro de RMN ^1H (figura 46) mostra um pico em $\delta\ 0,88\text{ ppm}$ que pode ser atribuído aos hidrogênios do anel ciclopropil (Vilegas, W., 1989). O desaparecimento dos sinais em $\delta\ 2,80$ e $4,75\text{ ppm}$ indicam a ausência do grupo diazo.

O espectro de RMN ^{13}C (figura 47) motra um pico em $\delta\ 10,92\text{ ppm}$ e outro em $18,86\text{ ppm}$ os quais podem ser atribuídos aos carbonos do anel ciclopropil (Vilegas, W., 1989). O sinal em campo mais baixo pode ser atribuído ao carbono C-17, mais próximo do cone anisotrópico da hidroxila.

Tabela II DADOS DOS ESPECTROS DE RMN C ¹³ DO ESTEVIOL ESTER METÍLICO(5)
 15 α -HIDROXI-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(10),
 15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(11),
 16,22-DIAZO-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(8),
 16-CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(9)

carbono	esteviol ester metílico (5)	15 α - hidroxi- esteviol ester metílico (10)	15-ceto- esteviol ester metílico (11)	16,22- diazó-15- ceto- esteviol ester metílico (8)	16-ciclopropil- 15-ceto-esteviol ester metílico (9)
C1	41,35	43,18	39,11	40,16	39,85
C2	19,11	19,24	18,82	19,26	20,71
C3	32,06	38,84	37,83	38,36	37,86
C4	43,80	45,94	43,76	43,92	43,77
C5	56,95	57,15	56,03	57,11	56,07
C6	21,89	21,26	20,71	20,75	20,87
C7	41,35	35,26	32,81	33,54	33,07
C8	41,67	49,82	55,16	56,50	48,76
C9	53,83	52,54	50,25	51,24	55,88
C10	39,27	40,84	39,85	34,90	39,85
C11	20,44	20,14	20,06	20,19	20,71
C12	40,71	39,61	39,85	40,33	37,85
C13	80,37	79,92	78,53	78,73	73,38
C14	47,44	44,09	44,17	44,24	45,71
C15	47,04	81,52	208,44	215,03	220,57
C16	156,13	159,86	151,43	107,34	36,04
C17	102,91	108,44	114,87	20,36	10,92
C18	28,73	28,77	28,67	29,15	28,70
C19	177,97	178,61	178,16	178,33	177,87
C20	15,32	15,65	15,29	15,81	15,32
C21 (OMe)	51,13	51,00	51,25	51,84	51,27
C22				79,45	18,86

6 - 16,17 α -EPOXI-ESTEVIOL(12).

A epoxidação do esteviol(2) à 16,17 α -epoxi-esteviol(12) foi obtida pela reação do esteviol(2) com ácido *m*-cloro perbenzóico em solução de diclorometano à temperatura ambiente por 72 horas. A eliminação do ácido *m*-cloro perbenzóico não reagido é feita com adição de solução de *m*-bissulfito de sódio (10%), o qual reage o excesso de ácido *m*-cloro perbenzóico à ácido benzóico, de boa solubilidade em água. Foi feita uma lavagem com solução tampão pH 7,4, em seguida o produto foi extraído com acetato de etila.

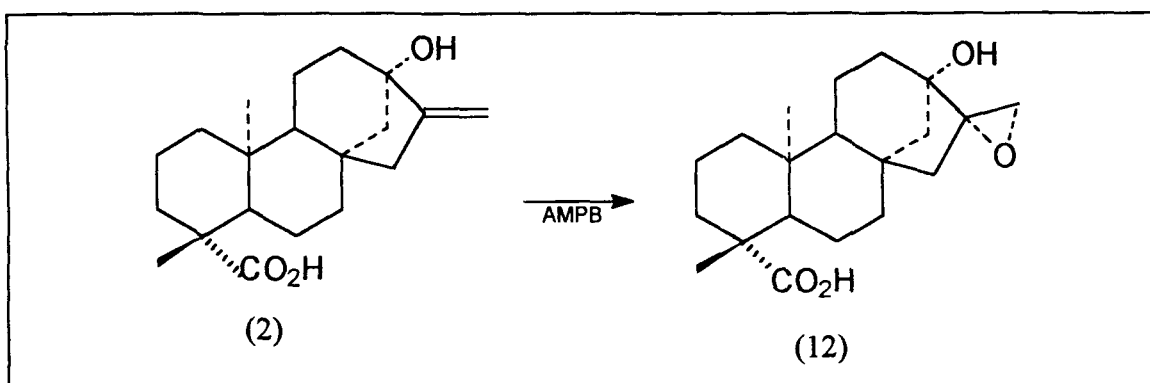


figura 25 EPOXIDAÇÃO DO ESTEVIOL(2) À 16,17 α -EPÓXI-ESTEVIOL(12)

O espectro no infravermelho (figura 48) mostra uma banda larga em 1216 cm^{-1} relativa a deformação axial simétrica do anel de epoxi.

No espectro de RMN ^1H (figura 49) observamos um singlete relativo à tres hidrogênios em δ 0,96 ppm do carbono 20, outro singlete também relativo à tres hidrogênios em 1,24 ppm do carbono 18 e os dubletes dos hidrogênios do anel epóxi em δ 2,78 e 2,92 ppm.

O espectro de RMN ^{13}C (figura 50) mostra os picos em δ 48,73 e 65,30 ppm relativos aos carbonos do anel epóxi, C-16 e C-17 respectivamente. O sinal da carboxila do ácido aparece em δ 183,00 ppm e o carbono contendo o álcool terciário em δ 74,96 ppm.

7 - 17-HIDROXI-ISOESTEVIOL(13).

A obtenção do 17-hidroxi-isoesteviol(13) foi feita a partir da isomerização proton-catalisada do 16,17 α -epoxi-esteviol (12), a qual ocorre quando o 16,17 α -epoxi-esteviol (12) é colocado em solução de ácido clorídrico (0,5%) por um período de 8 horas. O produto foi extraído com acetato de etila.

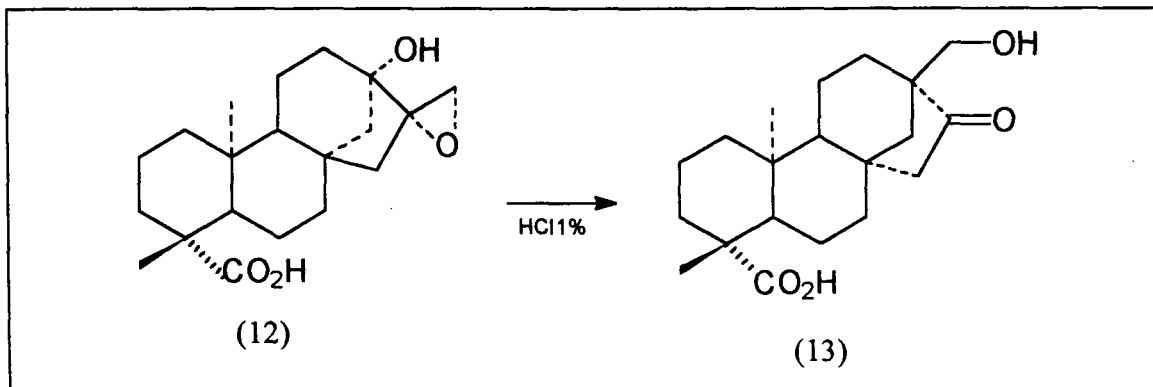


figura 26 ISOMERIZAÇÃO DO 16,17 α -EPOXI ESTEVIOL(12) À 17-HIDROXI-ISOESTEVIOL(13)

O espectro no infravermelho (figura 51) apresenta uma banda larga em 3400 cm^{-1} devido a deformação axial de O-H, uma banda em 1725 cm^{-1} devido a deformação axial da ligação C=O da cetona e da carboxila do ácido.

Analisando o espectro de RMN ^1H (figura 52) atribui-se o singlete em δ 0,80 ppm aos tres hidrogênios do carbono 20, o singlete em δ 1,26 ppm aos tres hidrogênios do carbono 18, e em δ 3,55 e 3,68 ppm aos dois dubletes referentes aos hidrogênios do carbono 17 o qual contém a hidroxila.

O espectro de RMN ^{13}C (figura 53) mostra um pico em δ 223,5 ppm da carbonila cetônica, um pico em δ 183,1 ppm da carboxila de ácido, em δ 64,9 ppm um pico de carbonila de álcool primário.

9 - ESTEVIOLBIOSÍDEO (3).

A hidrólise do esteviosídeo (1) à esteviolbiosídeo(3) é feita em meio alcalino de hidróxido de potássio (10%) por uma hora. Com a adição gradual de ácido acético glacial abaixa-se o pH até 5 onde o esteviolbiosídeo(3) precipita. O produto é filtrado, dissolvido em metanol, refiltrado e recristalizado.

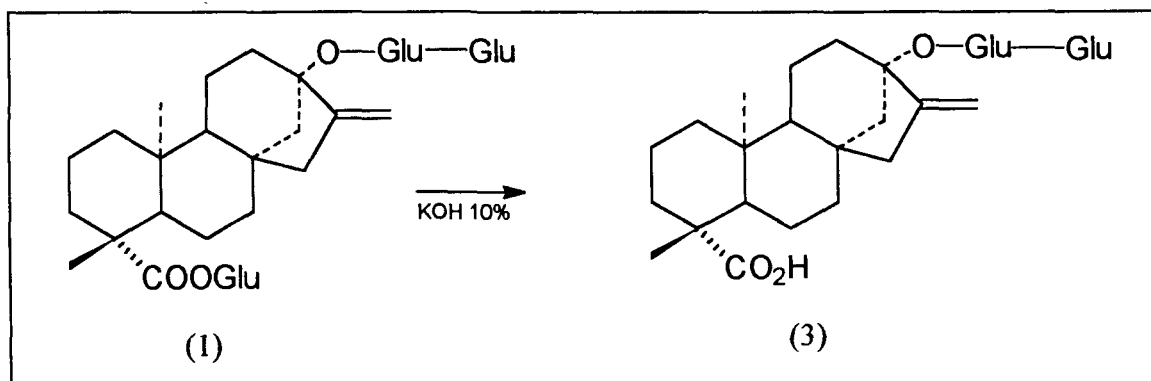


figura 27 HIDRÓLISE ALCALINA DO ESTEVOSÍDEO(1) À ESTEVIOLBIOSÍDEO(3)

A precipitação do esteviolbiosídeo(3) é feita através da inversão do pH da solução para ácido, onde o esteviolbiosídeo(3) é insolúvel, entretanto esta mudança de pH requer extremo cuidado, pois o esteviolbiosídeo em meio ácido pode ser hidrolizado e isomerizado à isoesteviol.

O espectro no infravermelho (figura 54) apresenta uma banda larga em 3470 cm^{-1} devido às várias hidroxilas, em 2800 cm^{-1} devido a deformação axial das ligações C-H e em 1150 cm^{-1} de deformação axial assimétrica de C-O-C das glicoses.

10 - 16,17 α -EPÓXI-ESTEVIOLBIOSÍDEO (13).

A epoxidação do esteviolbiosídeo (3) foi feita através da dissolução em dioxano e adição de ácido m-cloro perbenzóico. Após 72 horas à temperatura ambiente parte do dioxano é retirado em evaporador rotativo e adicionado eter de petróleo até prescipitação de 16,17 α -epóxi-esteviolbiosídeo (13). O produto é recristalizado em metanol.

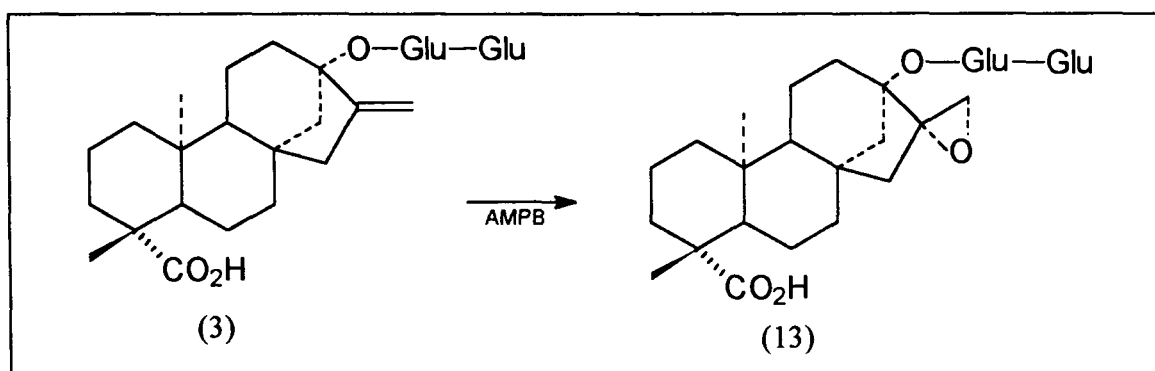


figura 28 EPOXIDAÇÃO DO ESTEVIOLBIOSÓDEO(3) À 16,17 α -EPOXI-ESTEVIOLBIOSÍDEO(14)

Do espectro no infravermelho (figura 55) observa-se as bandas em 3500 e 2750 cm^{-1} provenientes da deformação axial de O-H e deformação axial de C-H respectivamente.

O espectro de RMN ^1H (figura 56) apresenta um singlete em δ 0,90 e outro em 1,20 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios dos carbonos 20 e 18. Os dubletes em δ 2,84 e 2,88 ppm indicam a presença do anel epóxi (figura 57).

O espectro de RMN ^{13}C (figura 58) pode ser comparado com o espectro do 16,17 α -epóxi-esteviol, e assim identifica-se dentre outros os picos aqueles relativos ao anel epóxi em δ 44,6 e 66,1 ppm relativos ao anel epóxi (figura 58 e figura 59), e o sinal da carbonila do ácido em δ 181,8 ppm (figura 60).

Tabela III DADOS DOS ESPECTROS DE RMN C ¹³ DO ESTEVIOL ESTER METÍLICO(5),
16,17 α -EPÓXI-ESTEVIOL, 16,17 α -EPÓXI-ESTEVIOLBIOSÍDEO(14) E
17-HIDRÓXI-ISOESTEVIOL(13)

carbono	esteviol ester metílico(5)	16,17 α -epoxi-esteviol -(12)	16,17 α -epoxi-esteviolbiosídeo (14)	17-hidroxi-isoesteviol(13)
C1	41,35	41,19	42,61	39,73
C2	19,11	18,98	20,24	18,86
C3	32,06	37,90	39,12	37,68
C4	43,80	43,63	44,25	43,65
C5	56,95	56,80	58,06	56,93
C6	21,89	21,73	23,01	21,63
C7	41,35	34,75	34,46	41,32
C8	41,67	41,65	42,50	49,03
C9	53,83	53,81	55,21	55,38
C10	39,27	39,49	40,65	38,27
C11	20,44	19,58	20,66	19,84
C12	40,71	40,61	41,97	32,10
C13	80,37	74,96	76,11	39,77
C14	47,44	48,73	49,70	54,18
C15	47,04	45,67	44,63	48,86
C16	156,13	48,73	48,50	223,47
C17	102,91	65,30	66,11	64,92
C18	28,73	28,85	29,42	28,98
C19	177,97	183,71	183,00	183,10
C20	15,32	15,74	16,61	13,34
C21 (OMe)	51,13			

Tabela IV- DADOS DOS ESPECTROS DE RMN C¹³ DO
17-HIDROXI-ISOESTEVIOL ESTER METÍLICO REFERÊNCIA E
17-HIDRÓXI-ISOESTEVIOL(13)

carbono	17-hidroxi-isoesteviol ester metílico literatura(*)	17-hidroxi-isoesteviol (13)
C1	40,56	39,73
C2	18,94	18,86
C3	37,94	37,68
C4	43,68	43,65
C5	57,15	56,93
C6	21,75	21,63
C7	41,56	41,32
C8	48,70	49,03
C9	54,84	55,38
C10	38,00	38,27
C11	20,37	19,84
C12	38,00	32,10
C13	39,48	39,77
C14	54,40	54,18
C15	48,50	48,86
C16	222,14	223,47
C17	19,87	64,92
C18	28,85	28,98
C19	177,76	183,10
C20	13,21	13,34
C21 (OMe)	51,05	

(*) (Oliveira, B. H., 1989)

TABELA V - DADOS DOS ESPECTROS DE RMN C^{13} DO 16-CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO(9) E 16-CICLOPROPIL-15-OXO-CAURENOATO-19-METILA

carbono	16-ciclopropil-15ceto-esteviol ester metílico (9)	16-ciclopropil-15-oxo-caurenoato-19-metila
C1	39,85	39,9
C2	20,71	18,8
C3	37,86	37,6
C4	43,77	43,7
C5	56,07	56,1
C6	20,87	20,2
C7	33,07	33,9
C8	48,76	53,4
C9	55,88	51,0
C10	39,85	39,9
C11	20,71	18,8
C12	37,85	28,3
C13	73,38	37,6
C14	45,71	37,9
C15	220,57	222,6
C16	36,04	33,3
C17	10,92	11,8
C18	28,70	28,5
C19	177,87	177,7
C20	15,32	15,3
OMe	51,27	50,0
C22	18,86	19,5

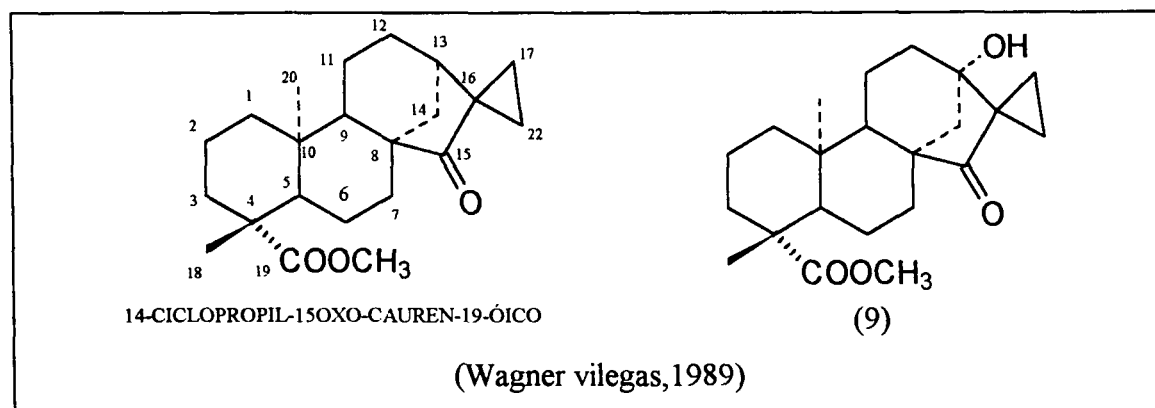


figura 29 16-CICLOPROPIL-15-CETO-ESTEVIOL ESTER METÍLICO (9) E
16-CICLOPROPIL-15-OXO-CAURENOATO-19-METILA

figura 30 espectro no infravermelho do esteviol (2) (pastilha KBr)

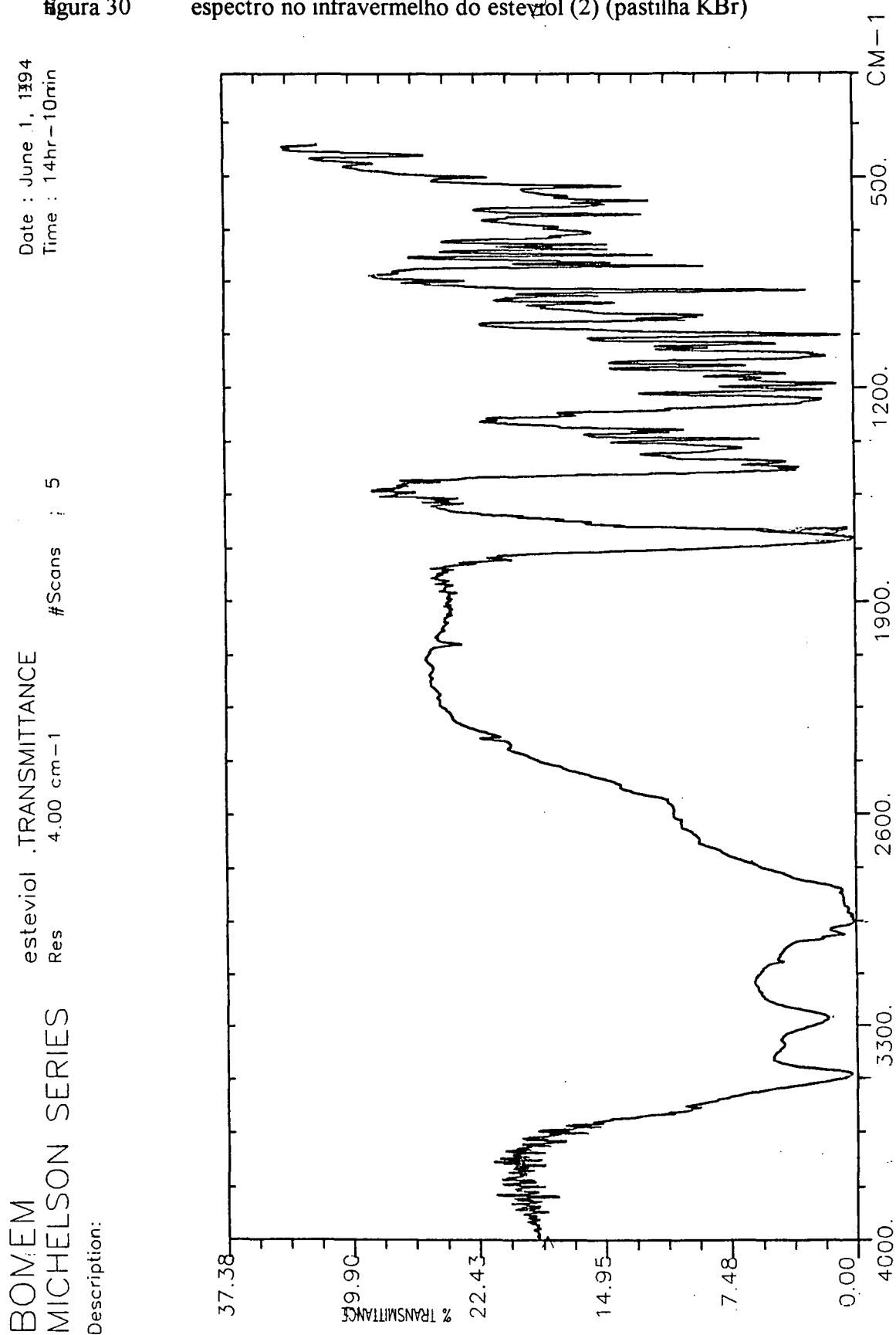


figura 31 espectro no infravermelho do esteviol ester metílico(5) (pastilha KBr)

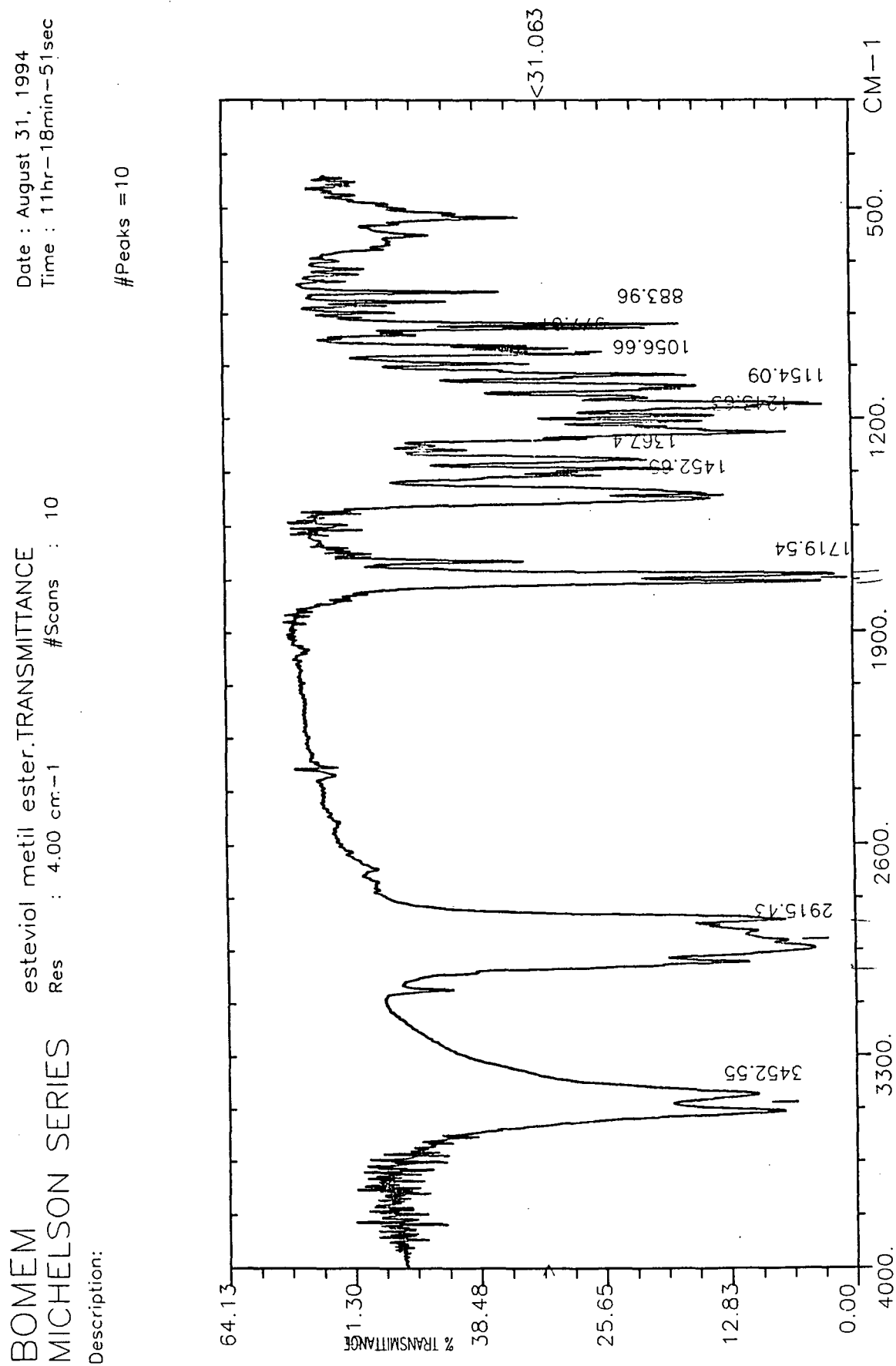


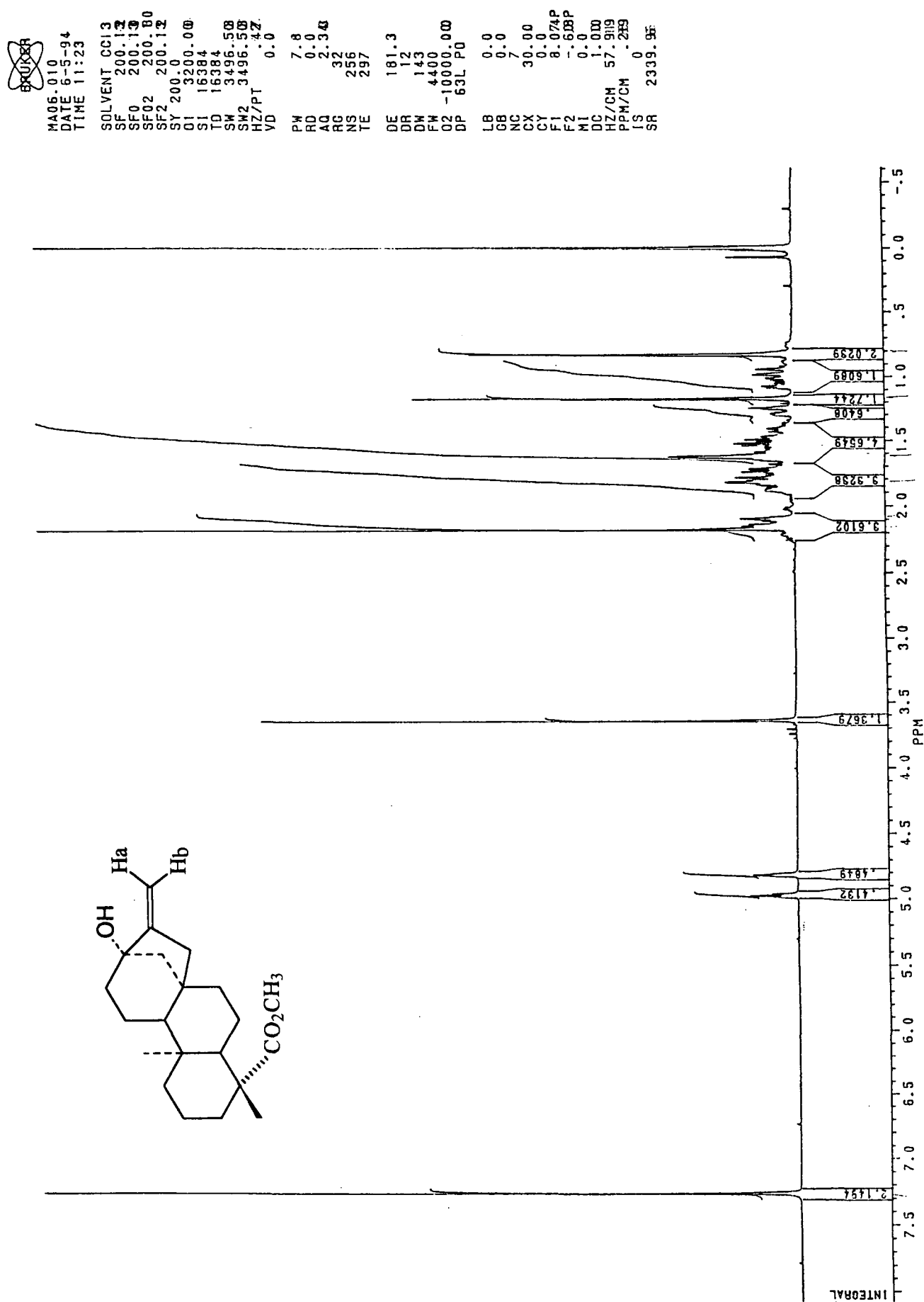
figura 32 espectro de RMN ^1H do esteviol ester metílico(5) (CDCl_3)

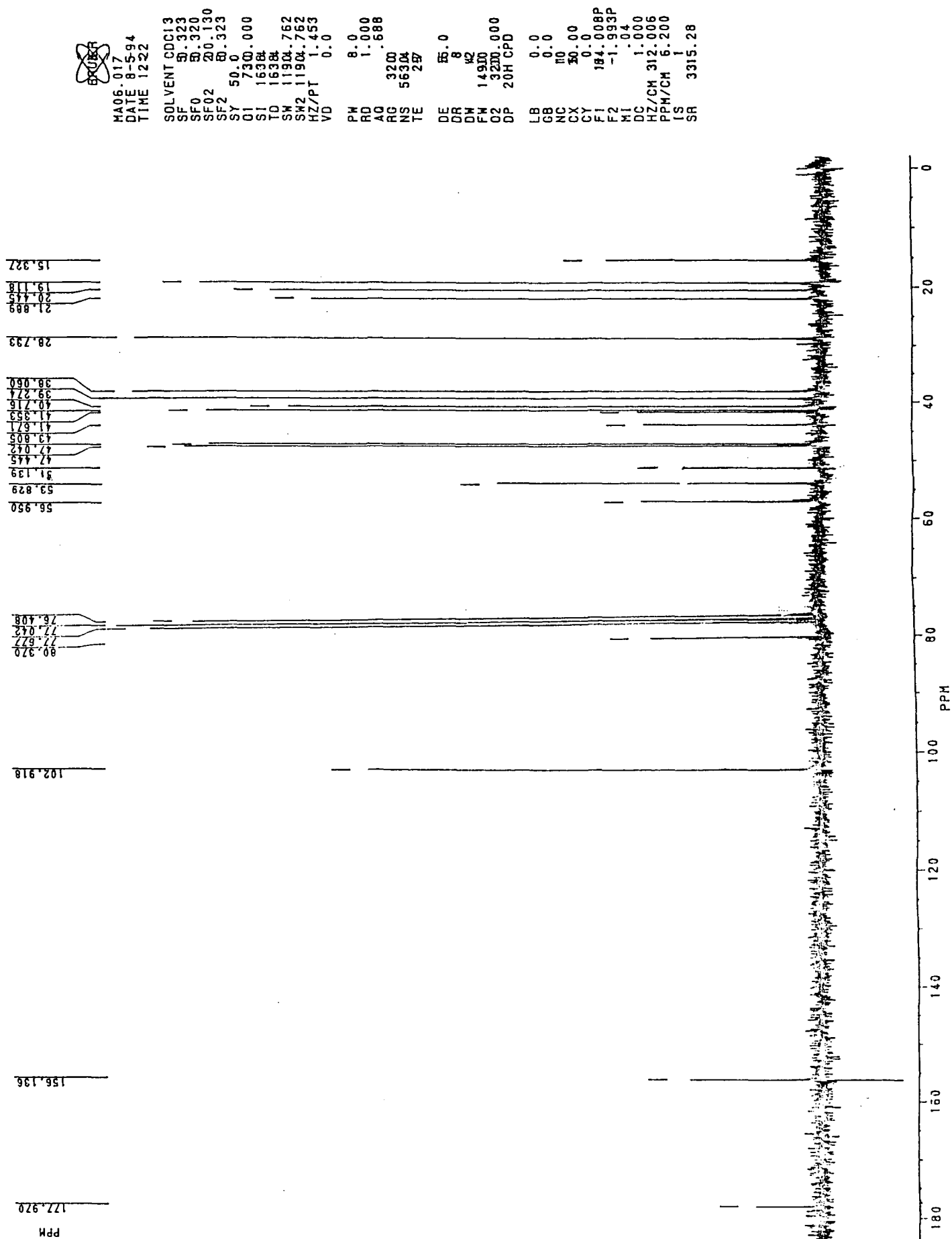
figura 33 espectro de RMN ^{13}C do esteviol ester metílico (5) (CDCl_3)

figura 34 espectro no infravermelho do 15-hidroxi-esteviol(6) (pastilha KBr)

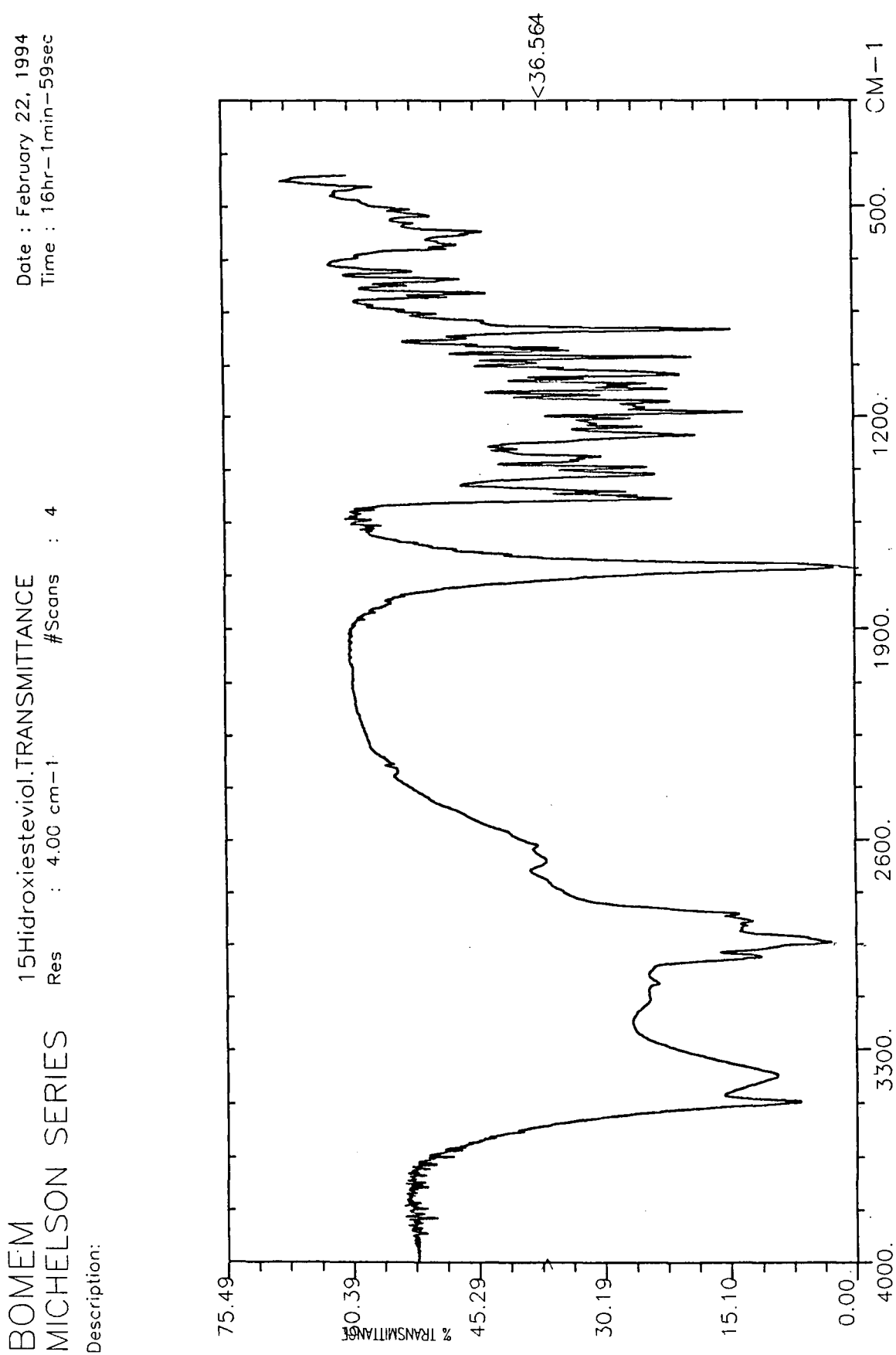


figura 35 espectro no infravermelho do 15-hidroxi-esteviol ester metílico(10)
(pastilha KBr)

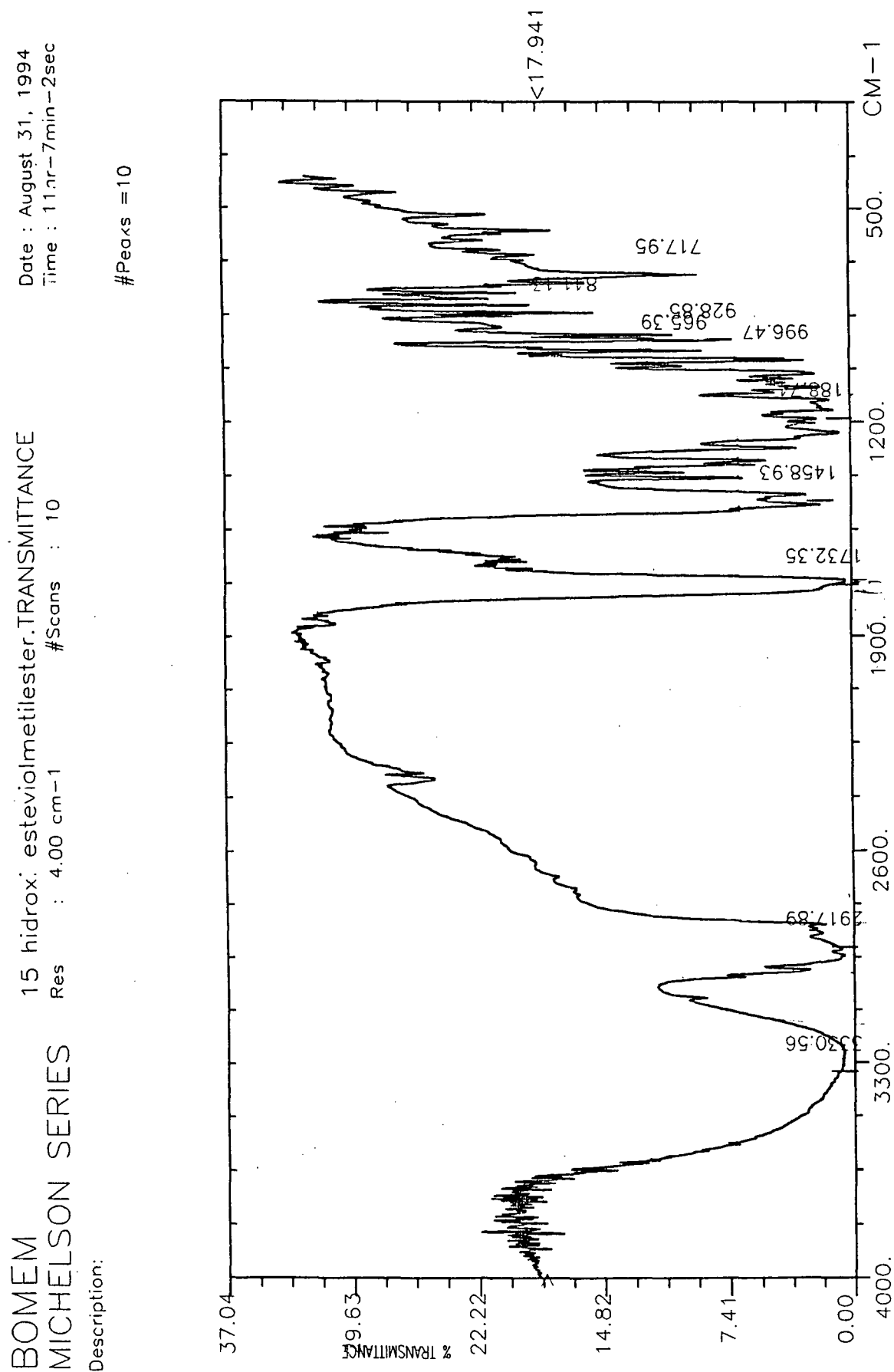


figura 36

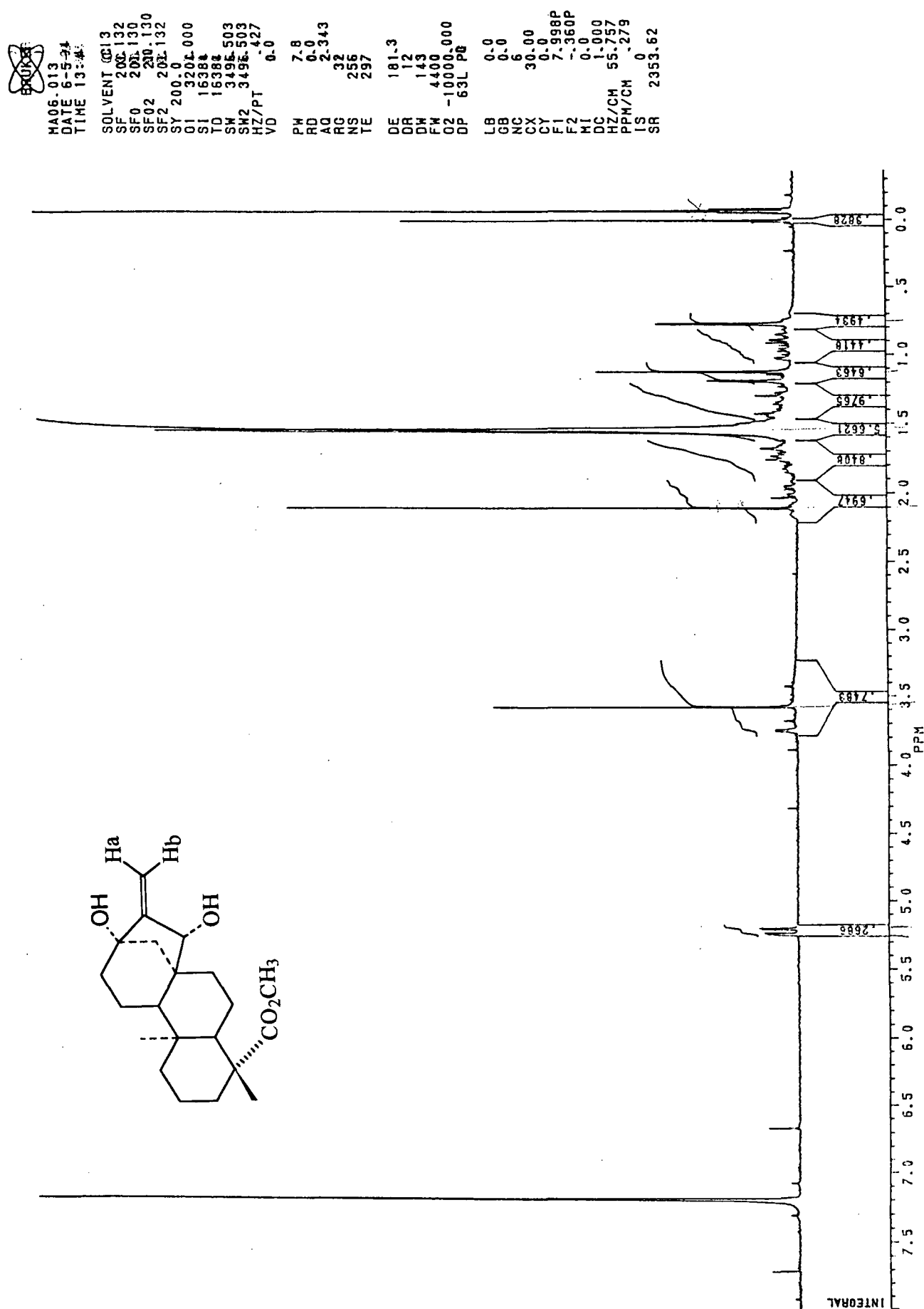


figura 37 espectro de RMN ¹³C do 15-hidroxi-esteviol ester metílico(10) (CDCl₃)

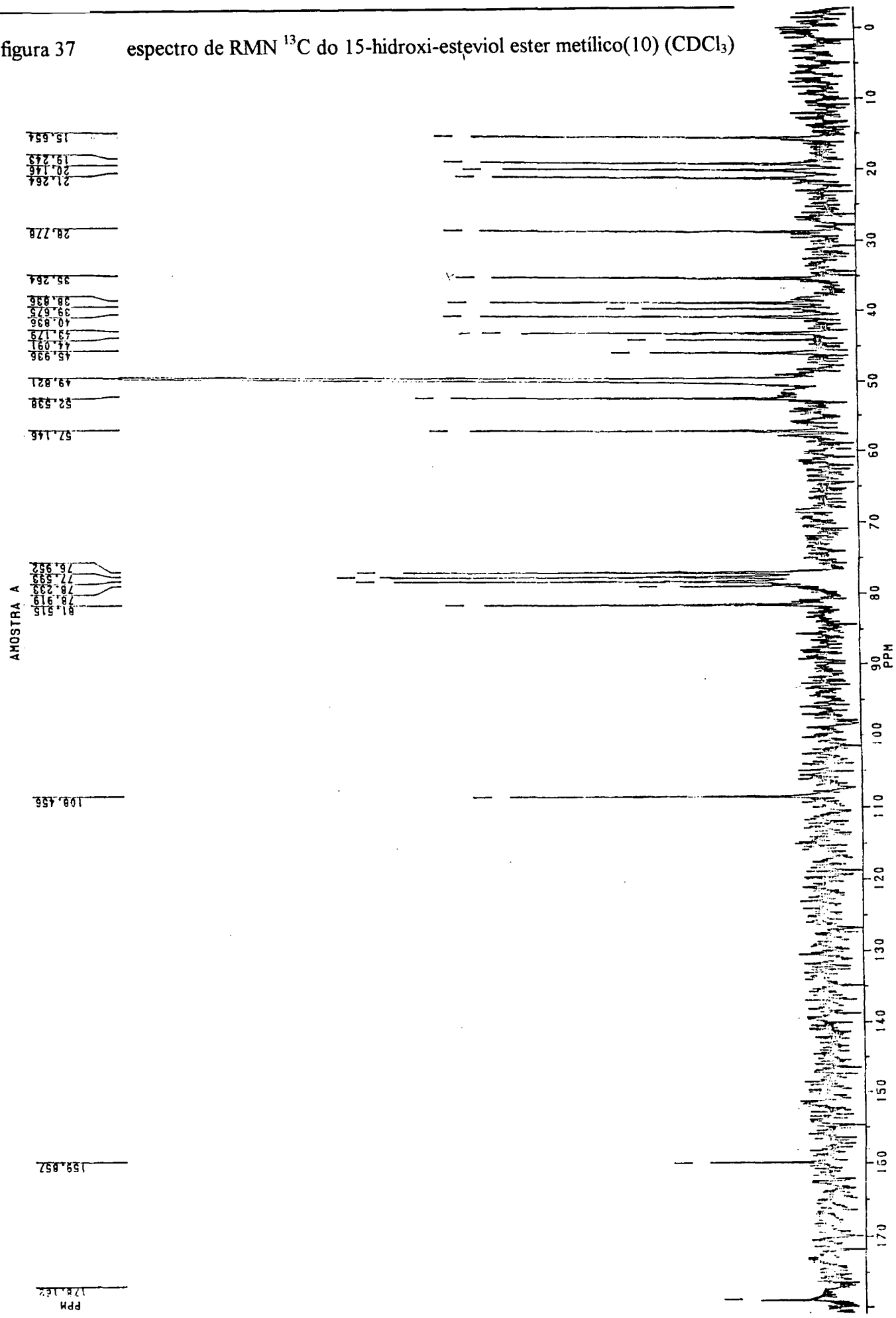


figura 38

espectro no infravermelho do 15-ceto-esteviol (7) (pastilha KBr)

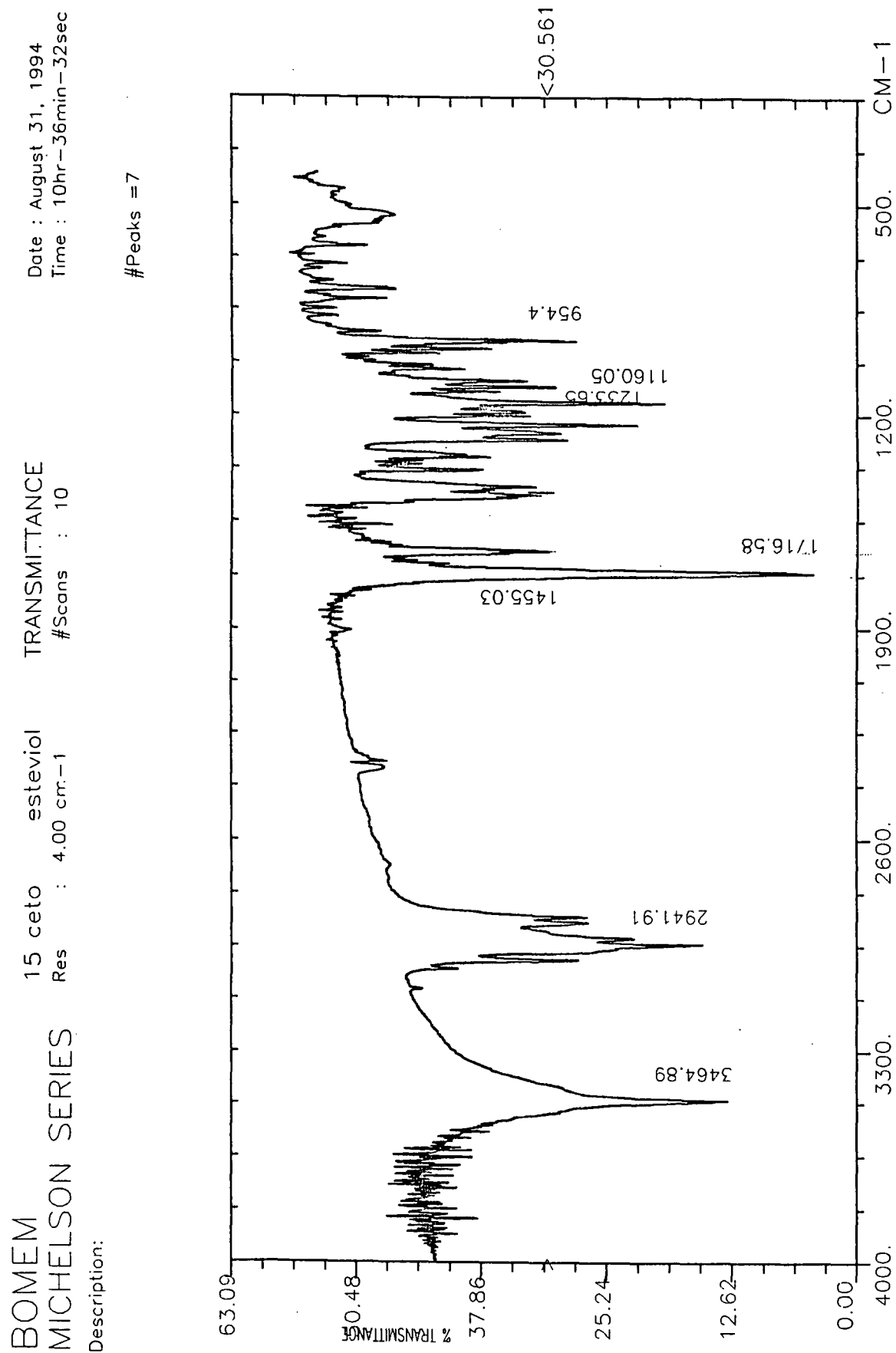


figura 39 espectro no infravermelho do 15-ceto-esteviol ester metílico(11)
(pastilha KBr)

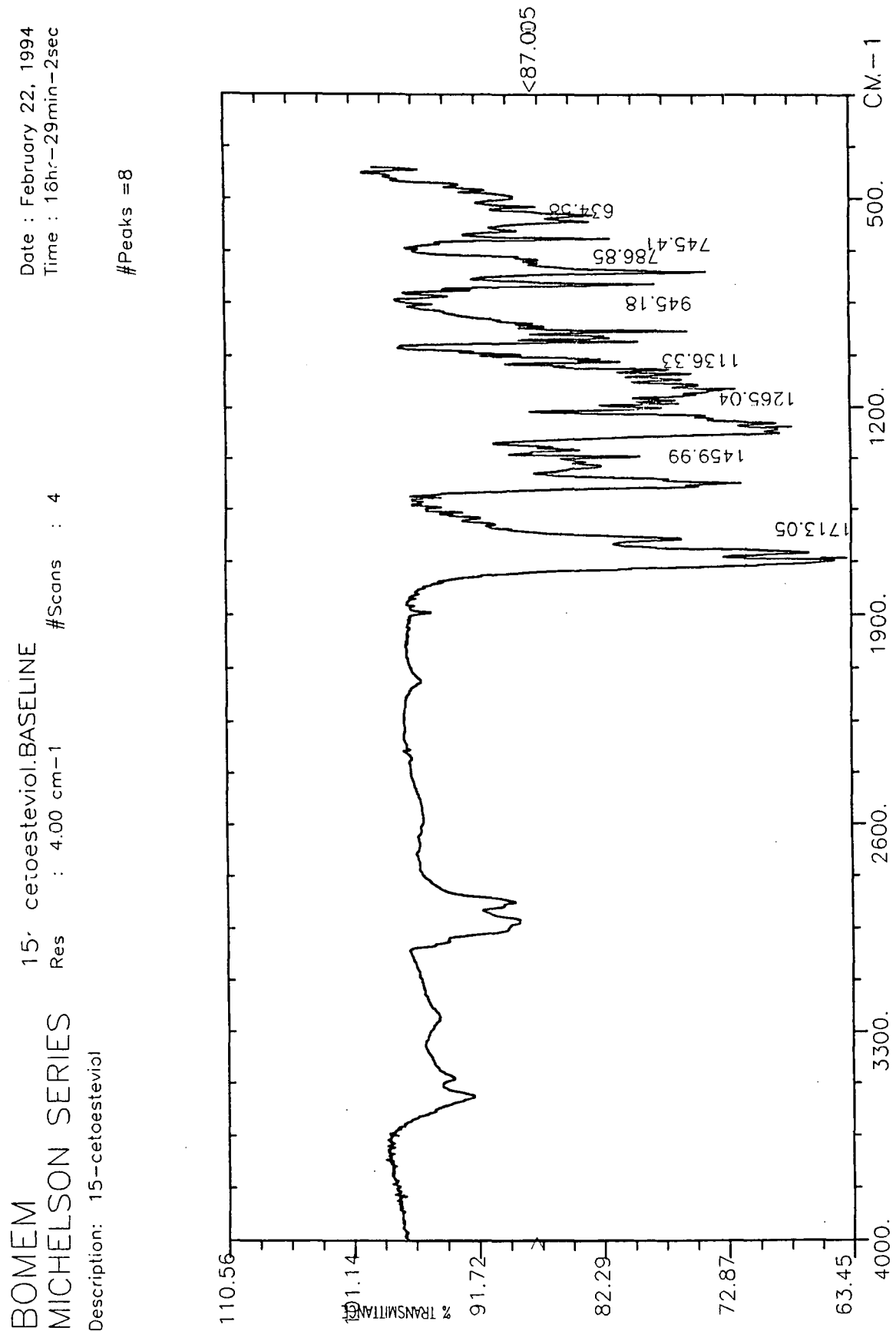


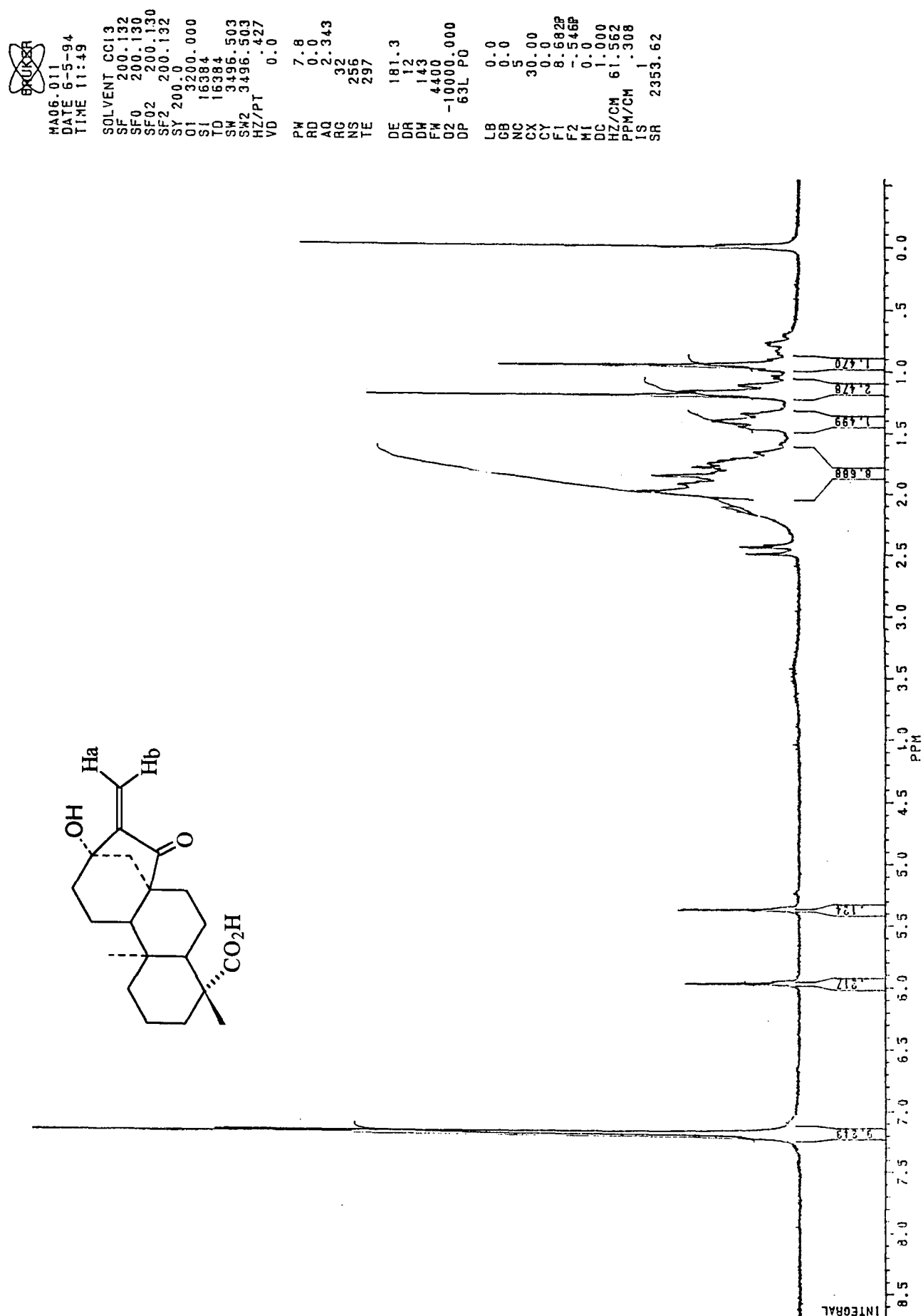
figura 40 espectro de RMN ^1H do 15-ceto-esteviol (7) (CDCl_3)

figura 41 espectro de RMN ¹³C do 15-ceto-esteviol ester metílico(11) (CDCl₃)

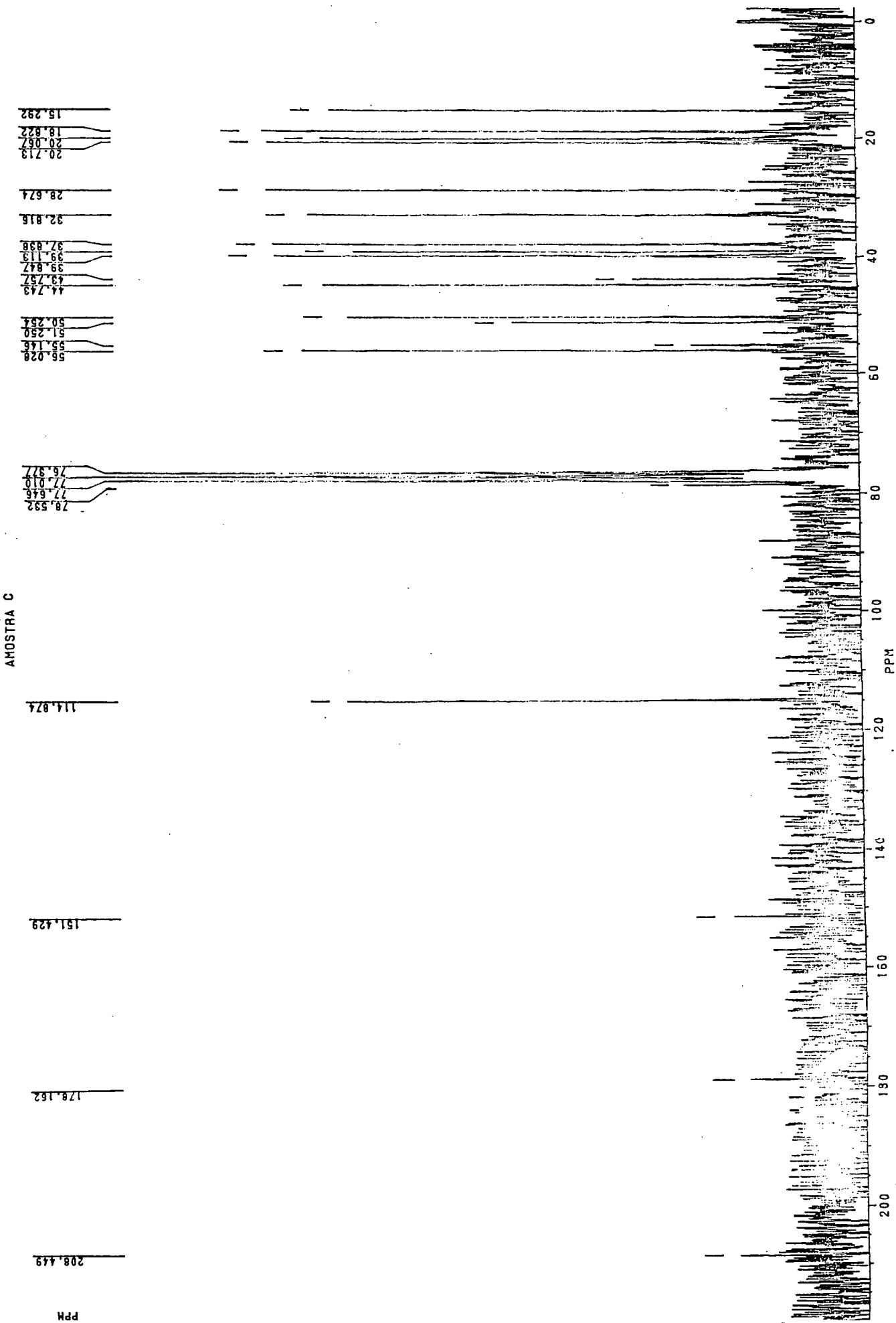


figura 42 espectro no infravermelho do 16,22-diazo-15-ceto-esteviol ester.
metílico(8) (pastilha KBr)

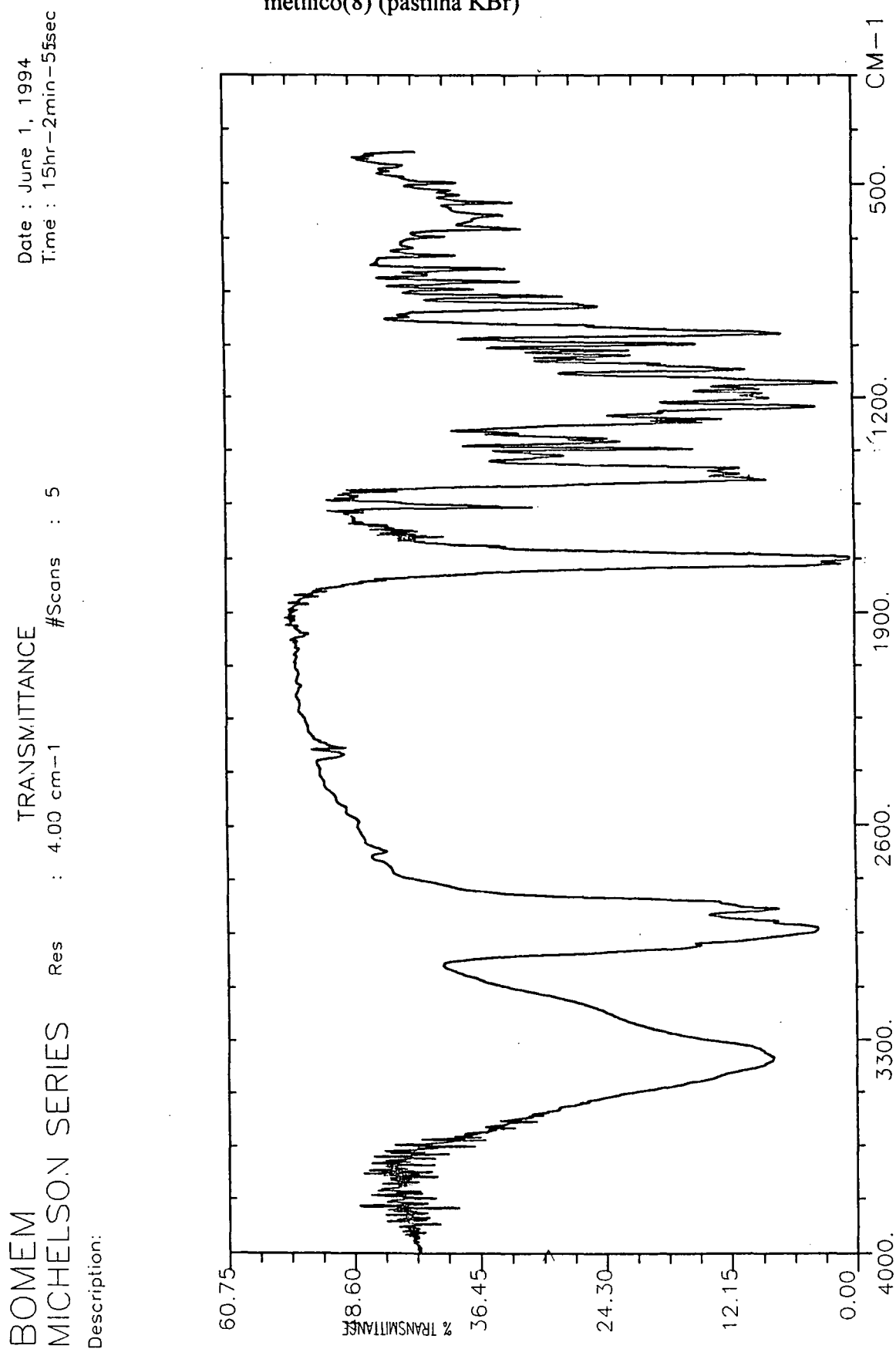


figura 43

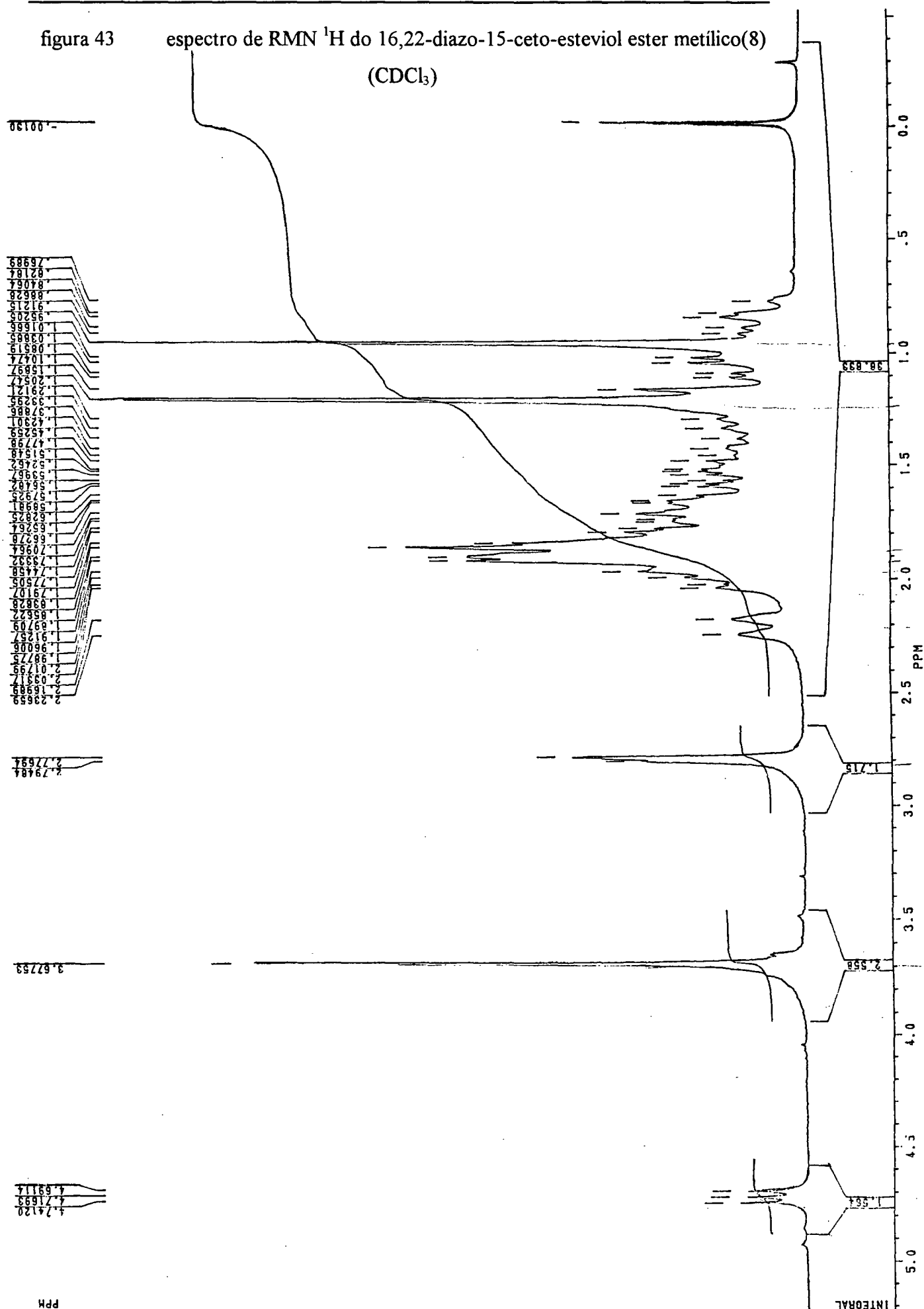


figura 44 espectro de RMN ^{13}C do 16,22-diazo-15-ceto-esteviol ester metílico(8)
(CDCl_3)

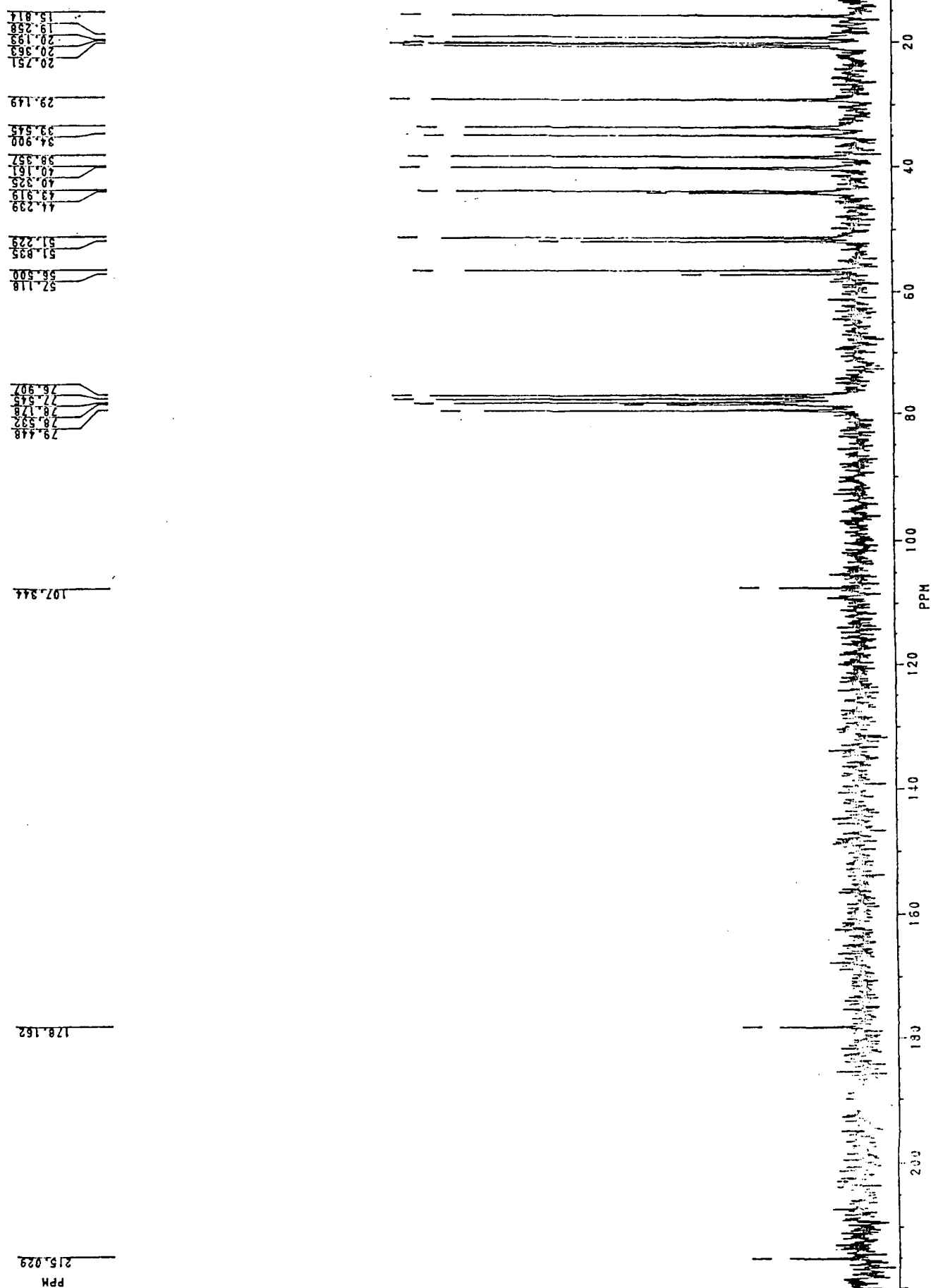


figura 45 espectro no infravermelho do 16-ciclopropil-15ceto-esteviol ester metílico(9) (pastilha KBr)

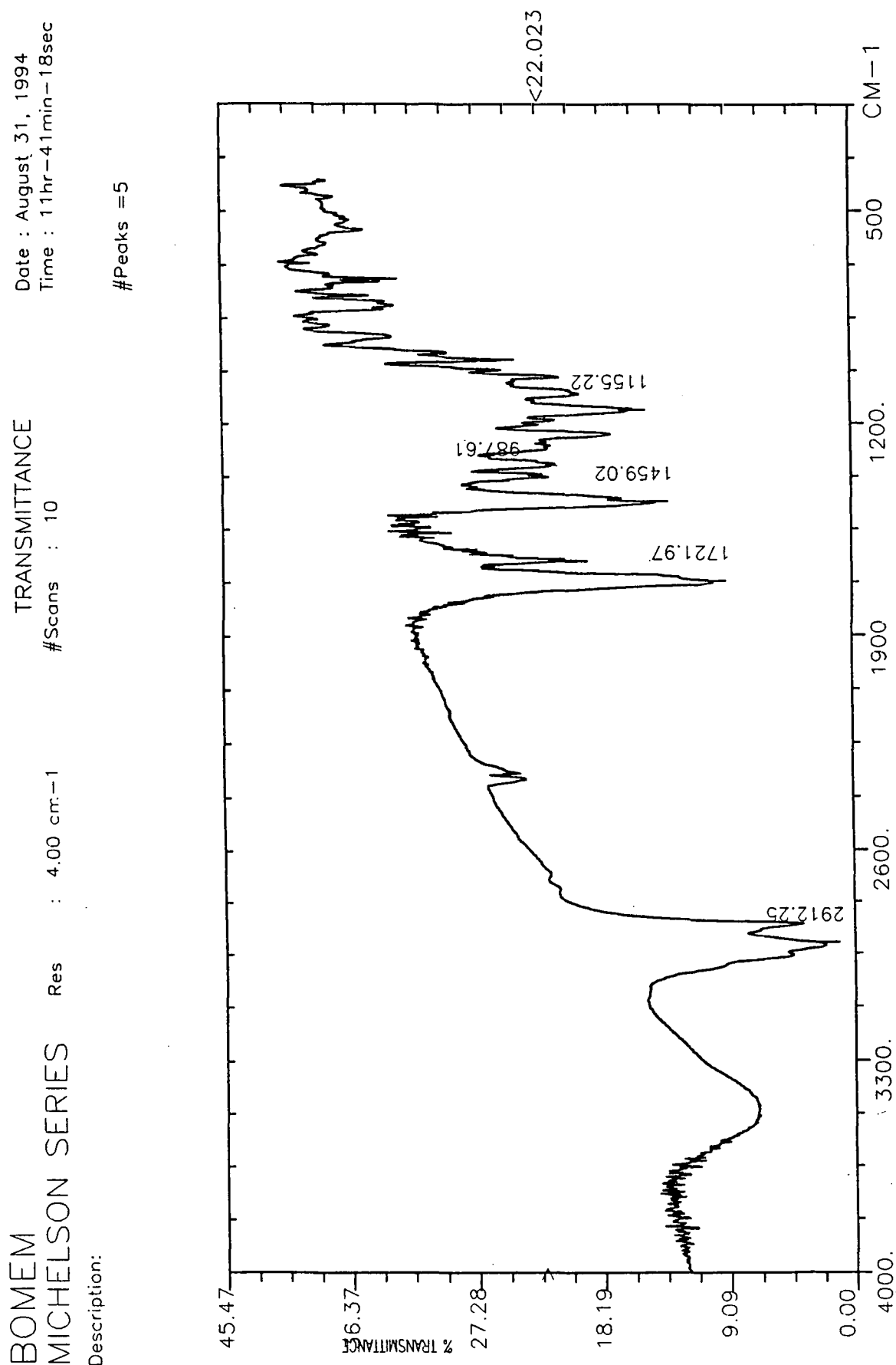


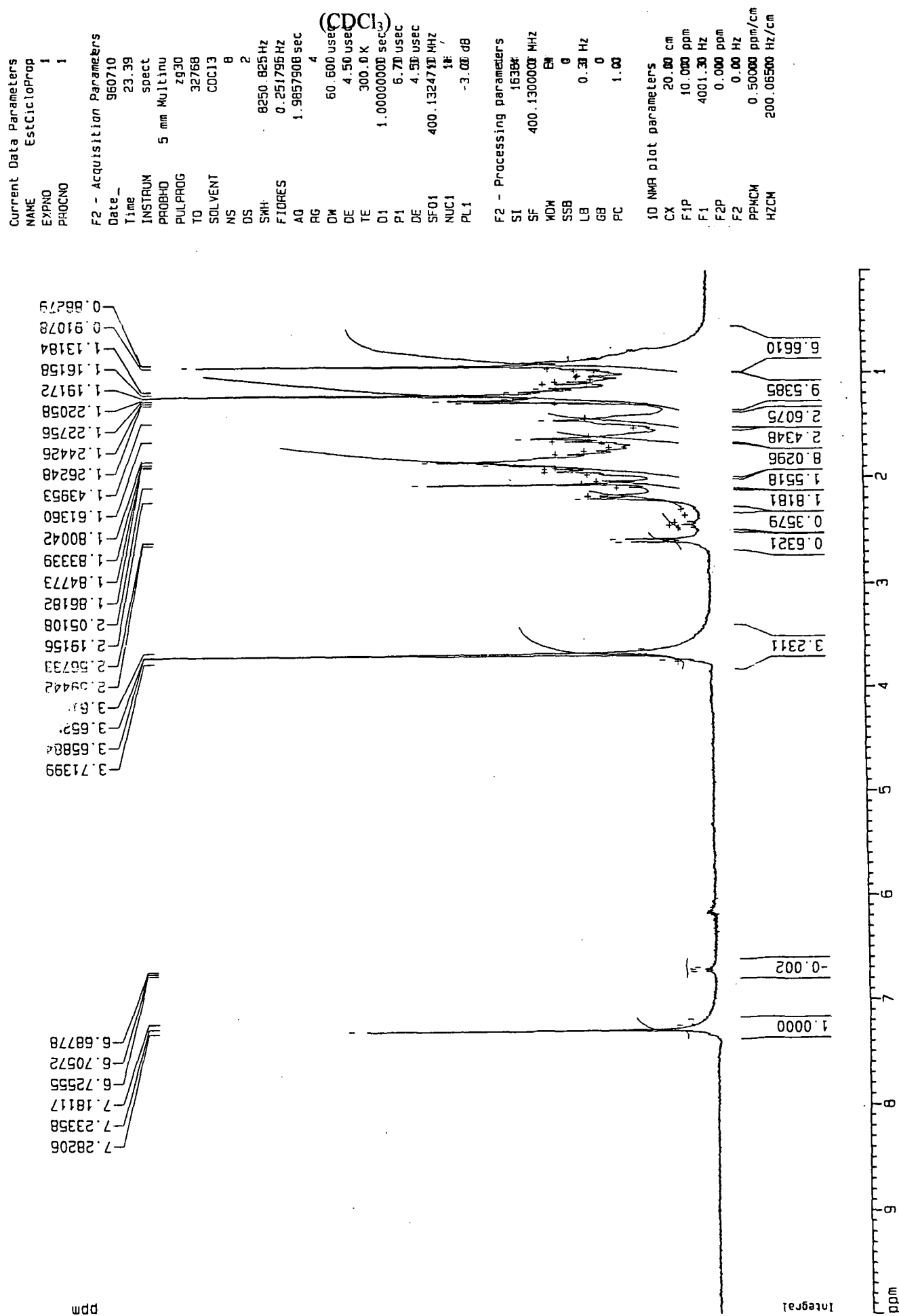
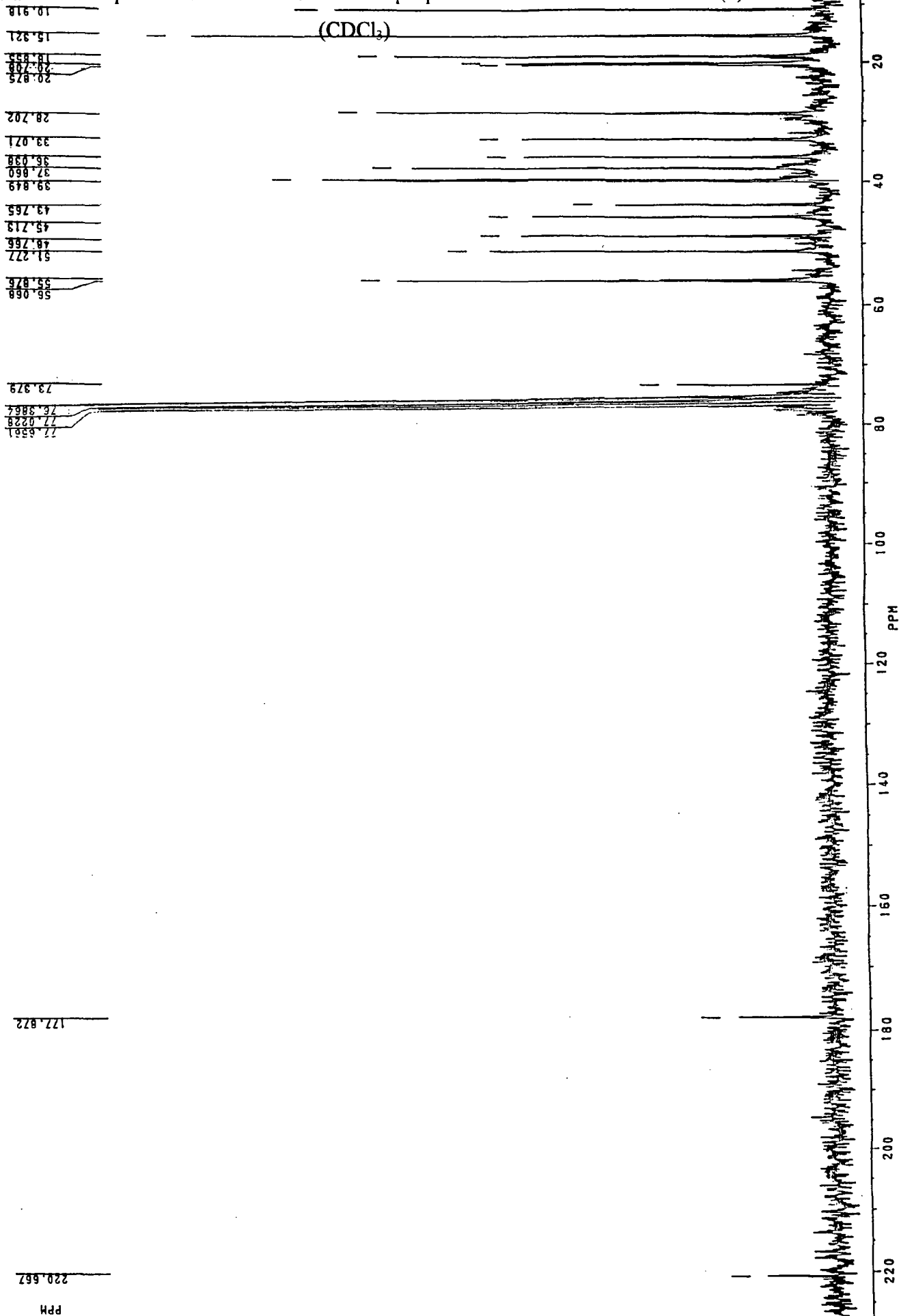
figura 46 espectro de RMN ^1H do 16-ciclopropil-15-ceto-esteviol ester metílico(9)

figura 47 espectro de RMN ^{13}C do 16-ciclopropil-15-ceto-esteviol ester metílico(9)

BOMEM

MICHELSON SERIES

Res

: 4.00 cm⁻¹

SUBTRACTION

#Scans : 10

Date : November 25, 1994

Time : 11hr-8min-40sec

Description: procedencia Carlos

figura 48

#Peaks =10

espectro no infravermelho do 16,17 α -epoxi-esteviol(12) (pastilha KBr)

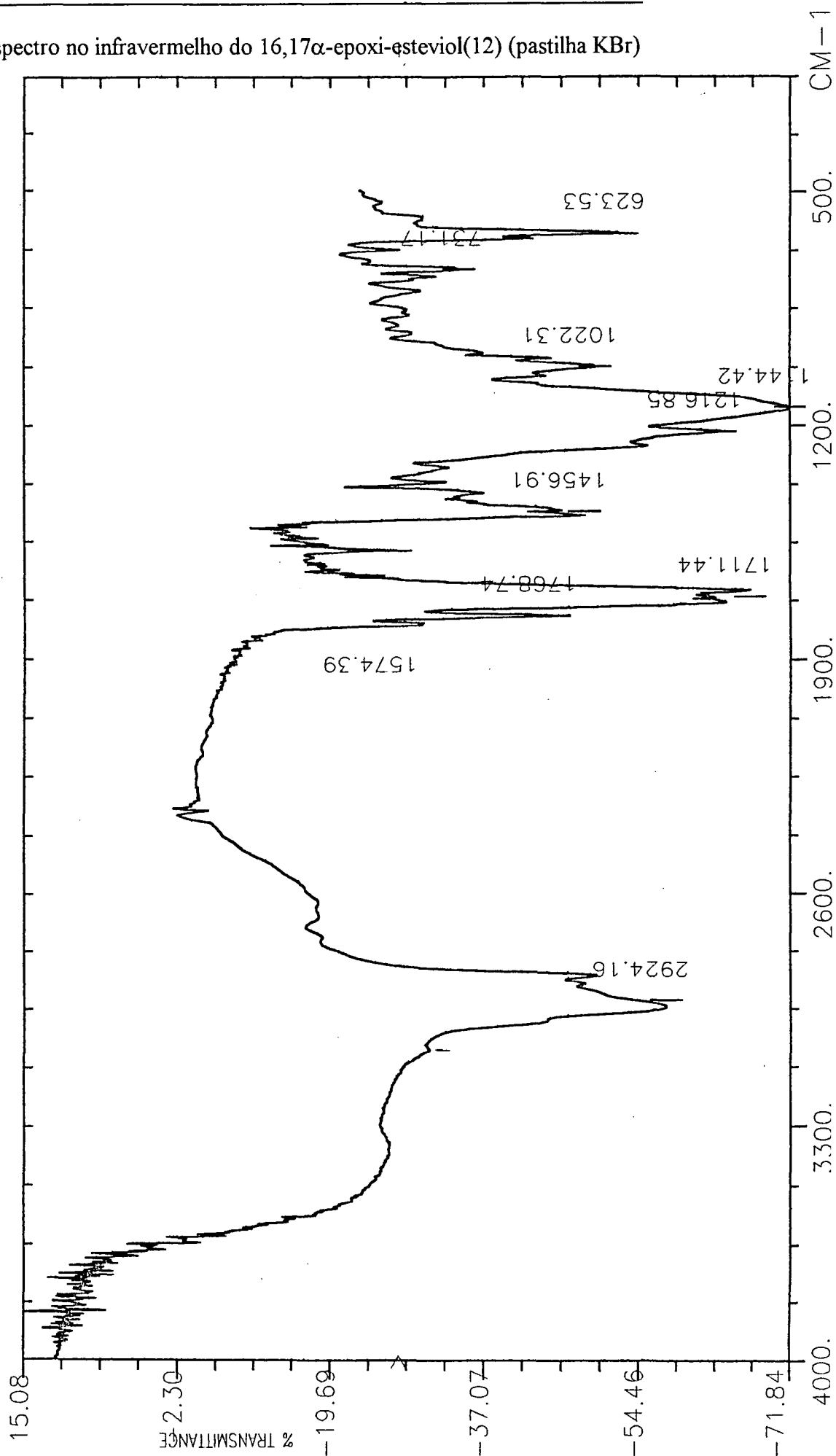


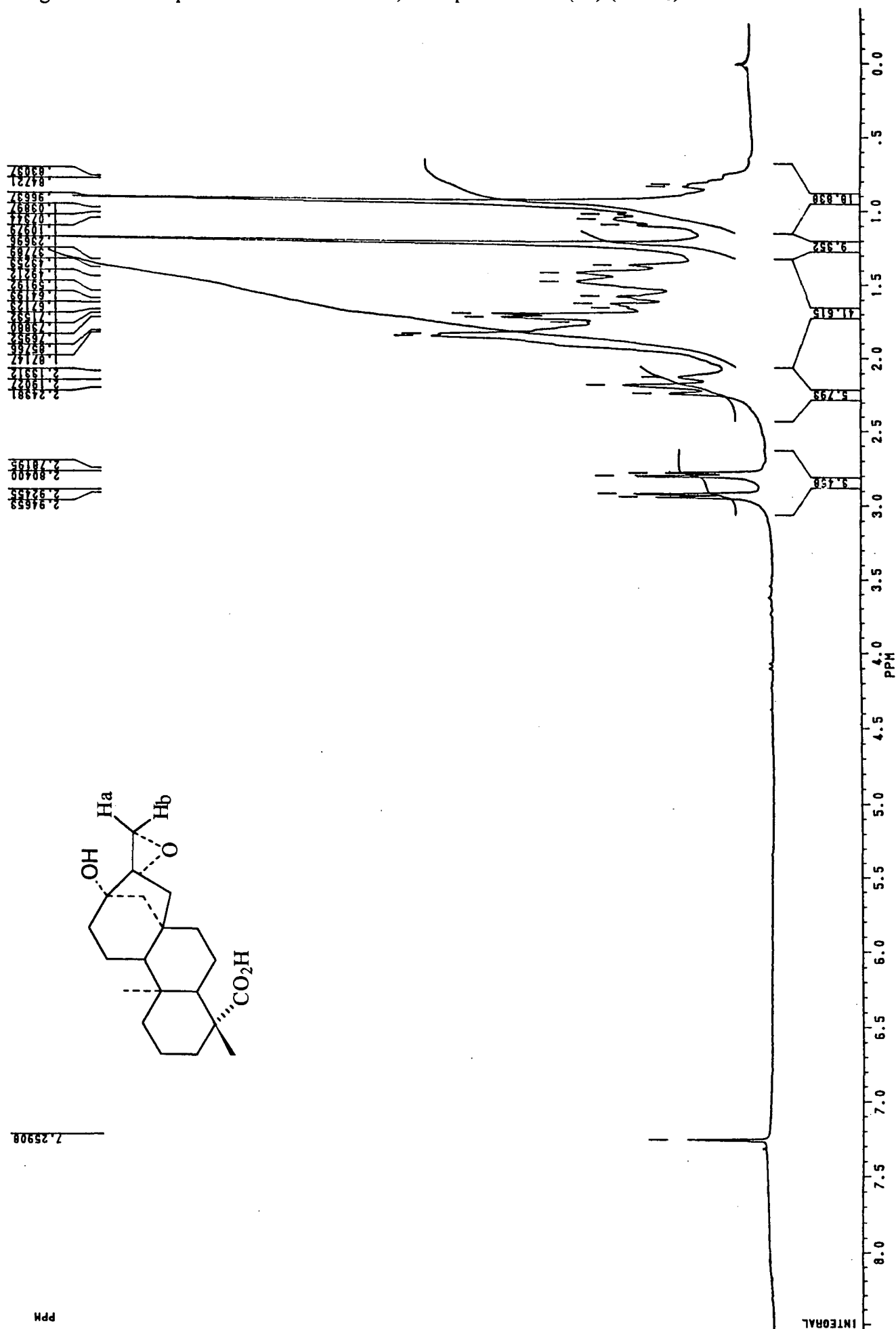
figura 49 espectro de RMN ^1H do 16,17 α -epoxi-esteviol(12) (CDCl_3)

figura 50 espectro de RMN ^{13}C do 16,17 α -epoxi-esteviol(12) (CDCl_3)

CARLOS, EPOXIDO

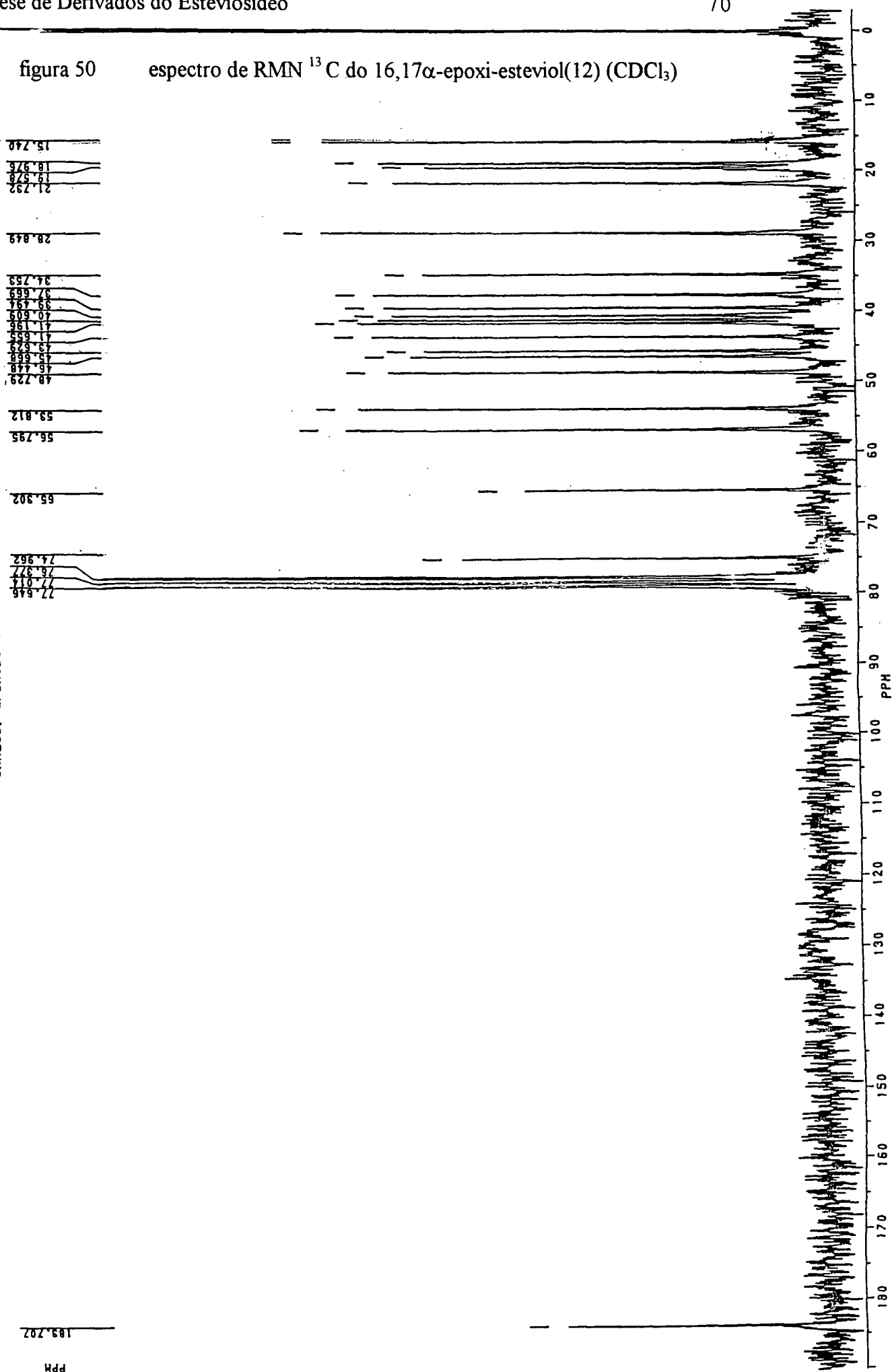
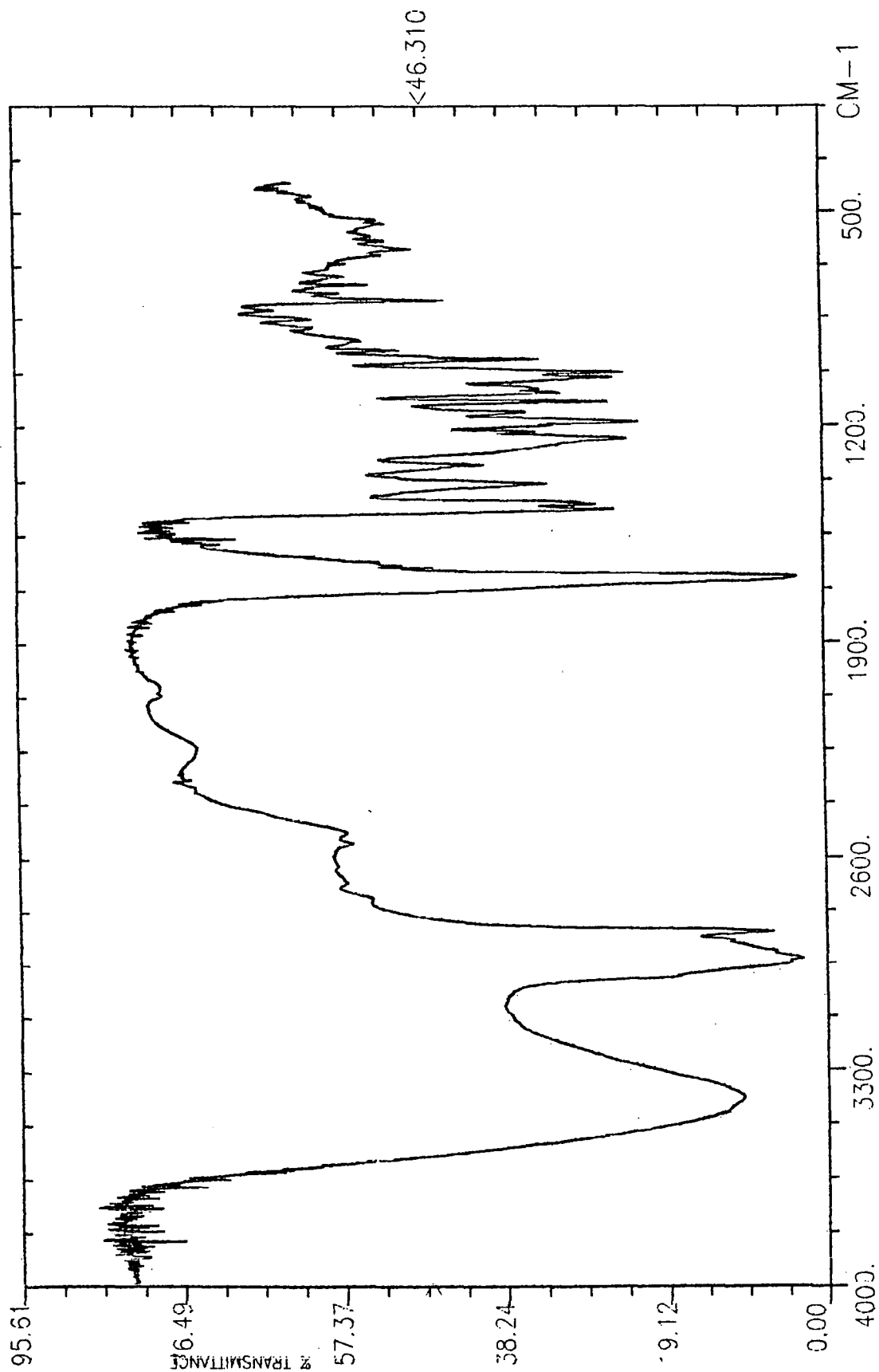


figura 51 espectro no infravermelho do 17-hidroxi-isoesteviol(13) (pastilha KBr)

BOEM
MICHELSON SERIES Res : 2.00 cm⁻¹ #Scans : 5
Date : January 4, 1980
Time : 19hr-46min-41sec
Description:



espectro de RMN ^1H do 17-hidoxi-isoesteviol(13) (CDCl_3)

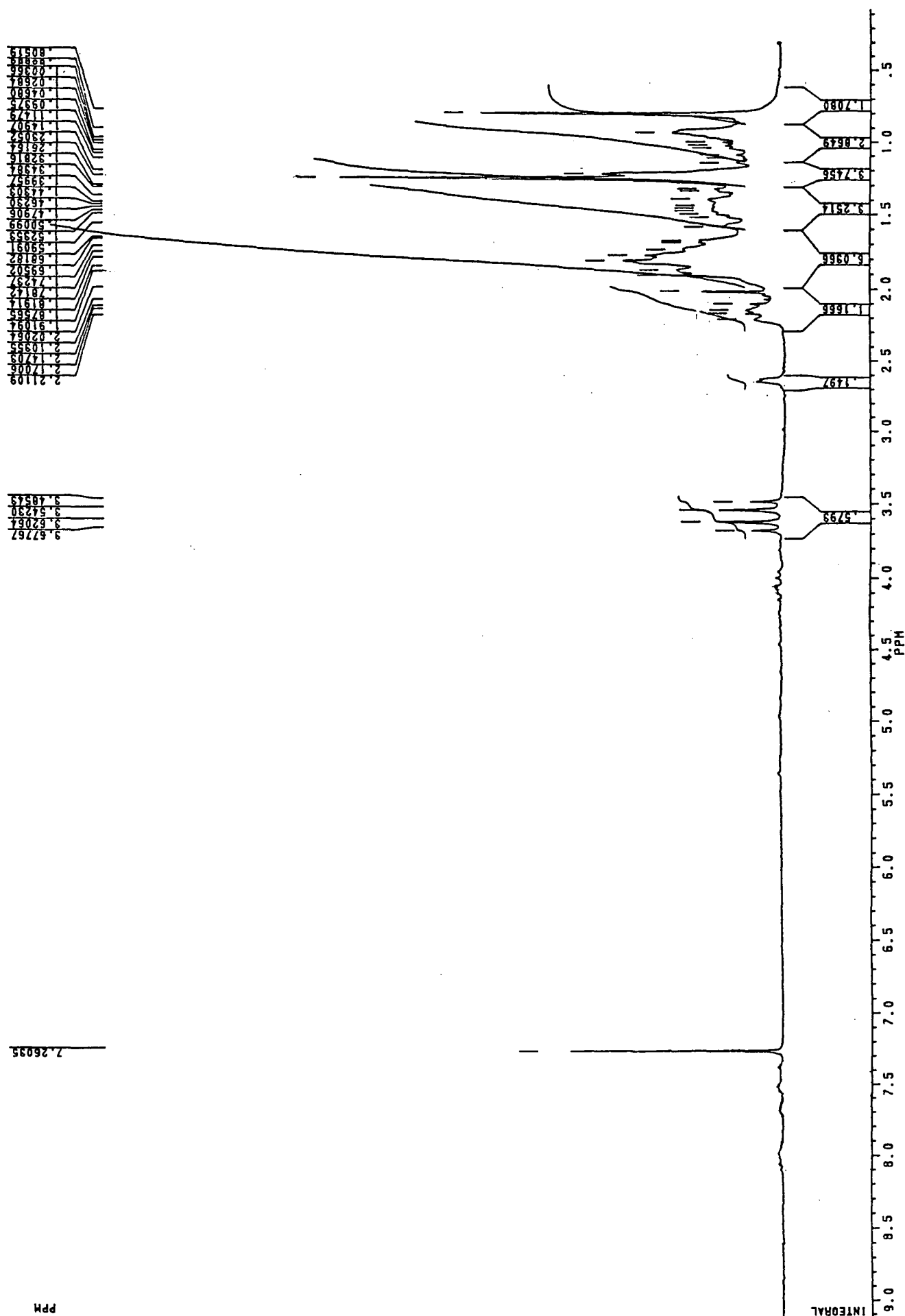


figura 53

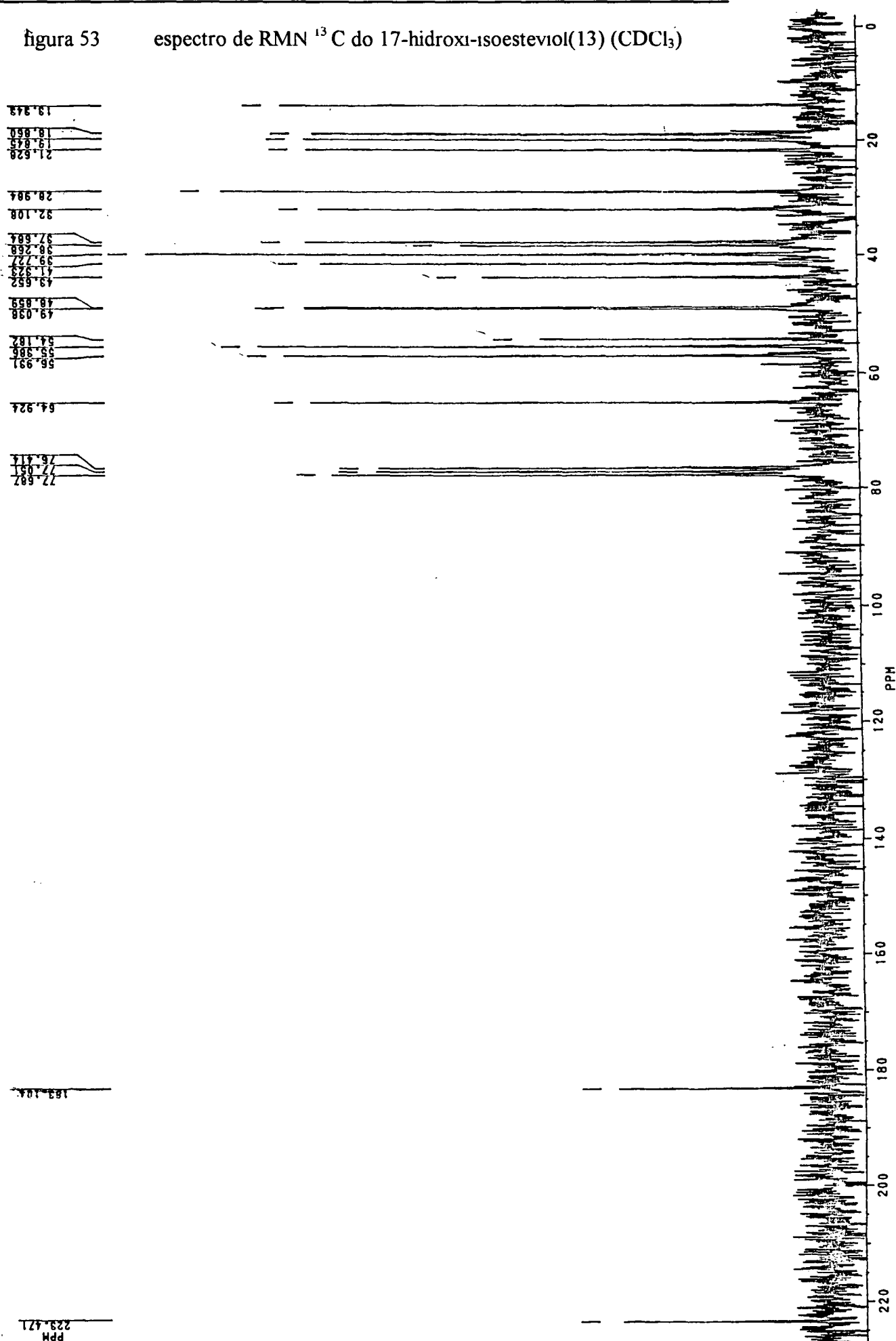
espectro de RMN ^{13}C do 17-hidroxi-isoesteviol(13) (CDCl_3)

figura 54 espectro no infravermelho do esteviolbiosídeo(3) (pastilha KBr)

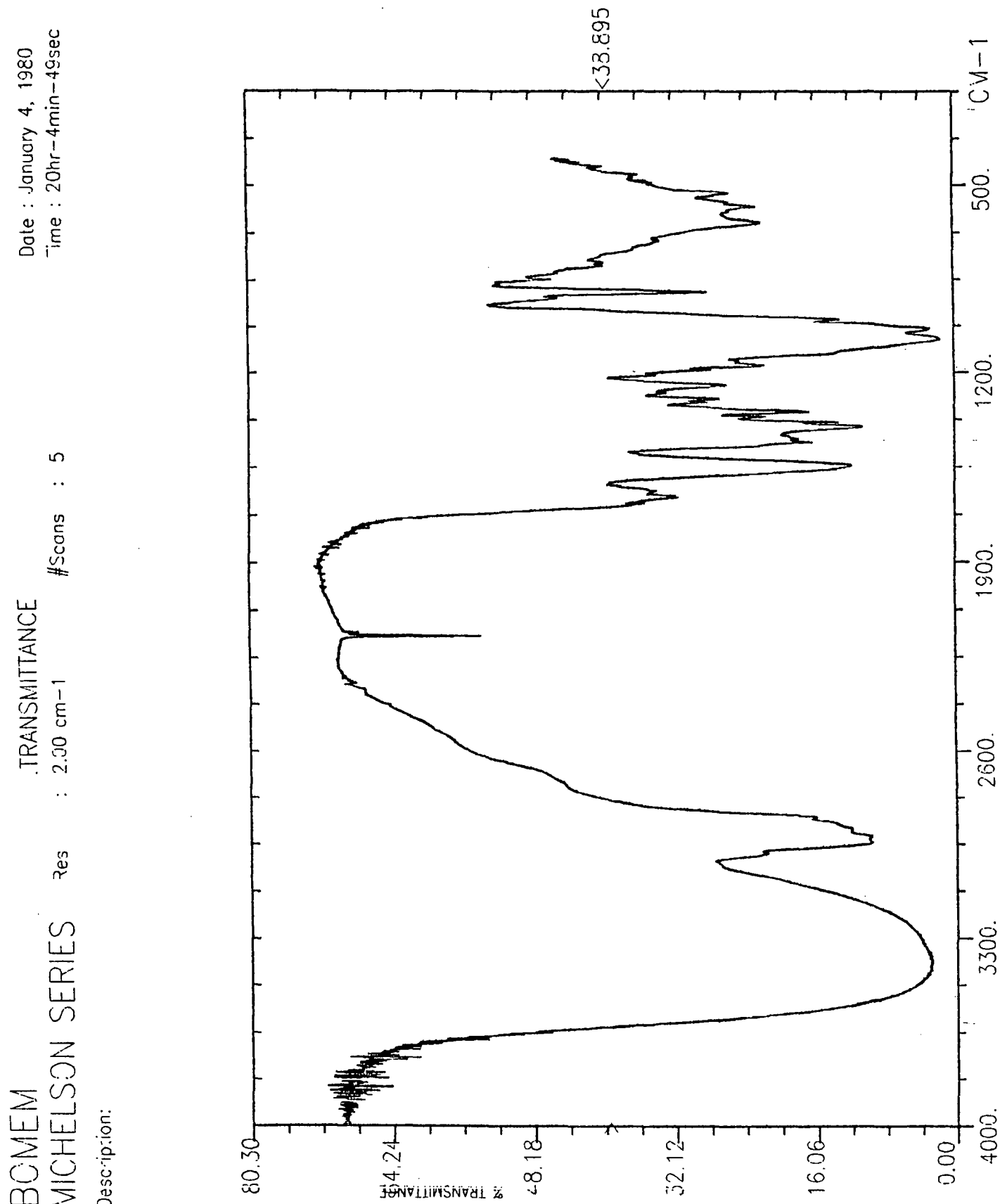


figura 55 espectro no infravermelho do 16,17 α -epoxi-esteviolbiosídeo(14)
(pastilha KBr)

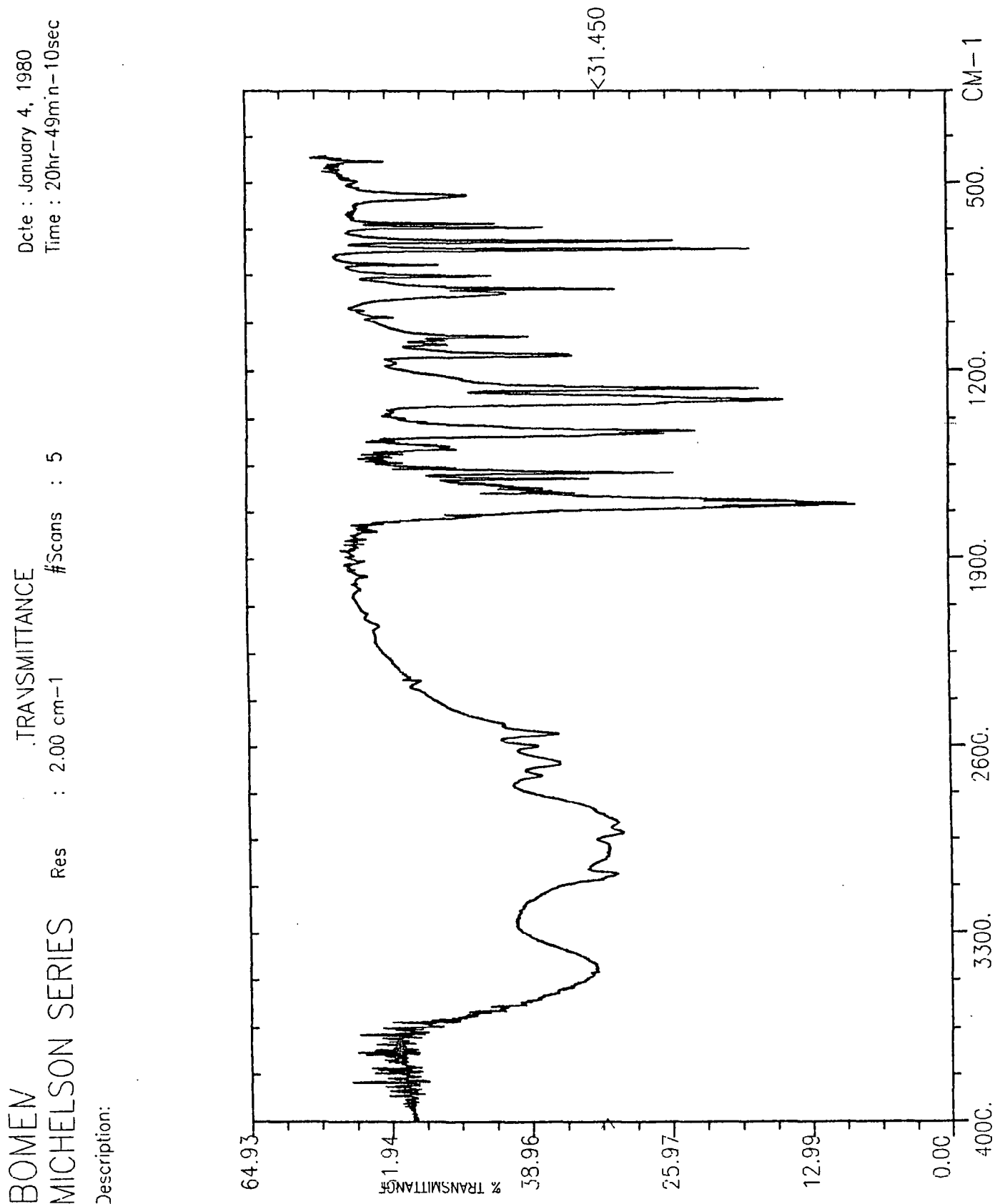


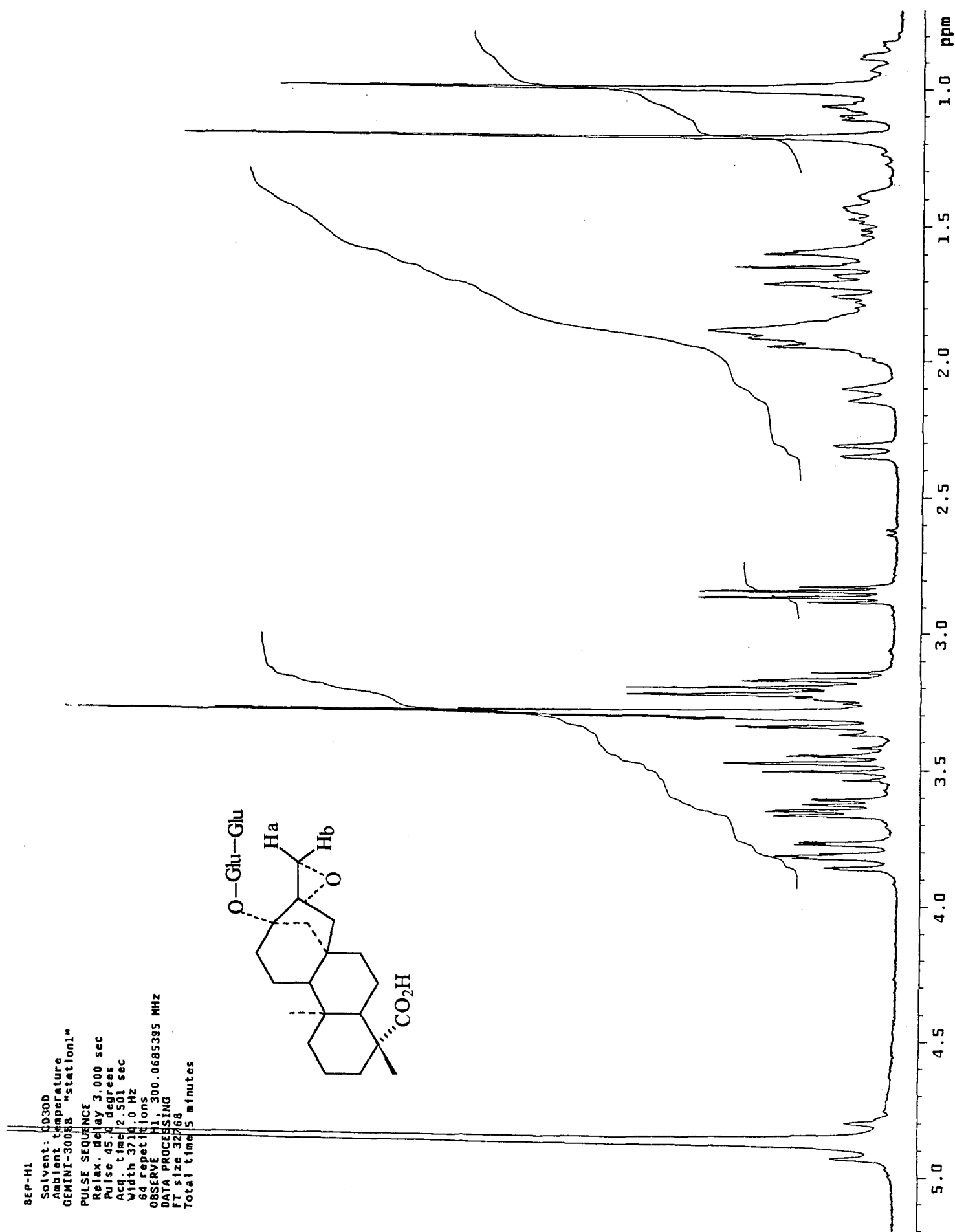
figura 56 espectro de RMN ^1H do 16,17 α -epoxi-esteviolbiosídeo(14) (CD_3OD)

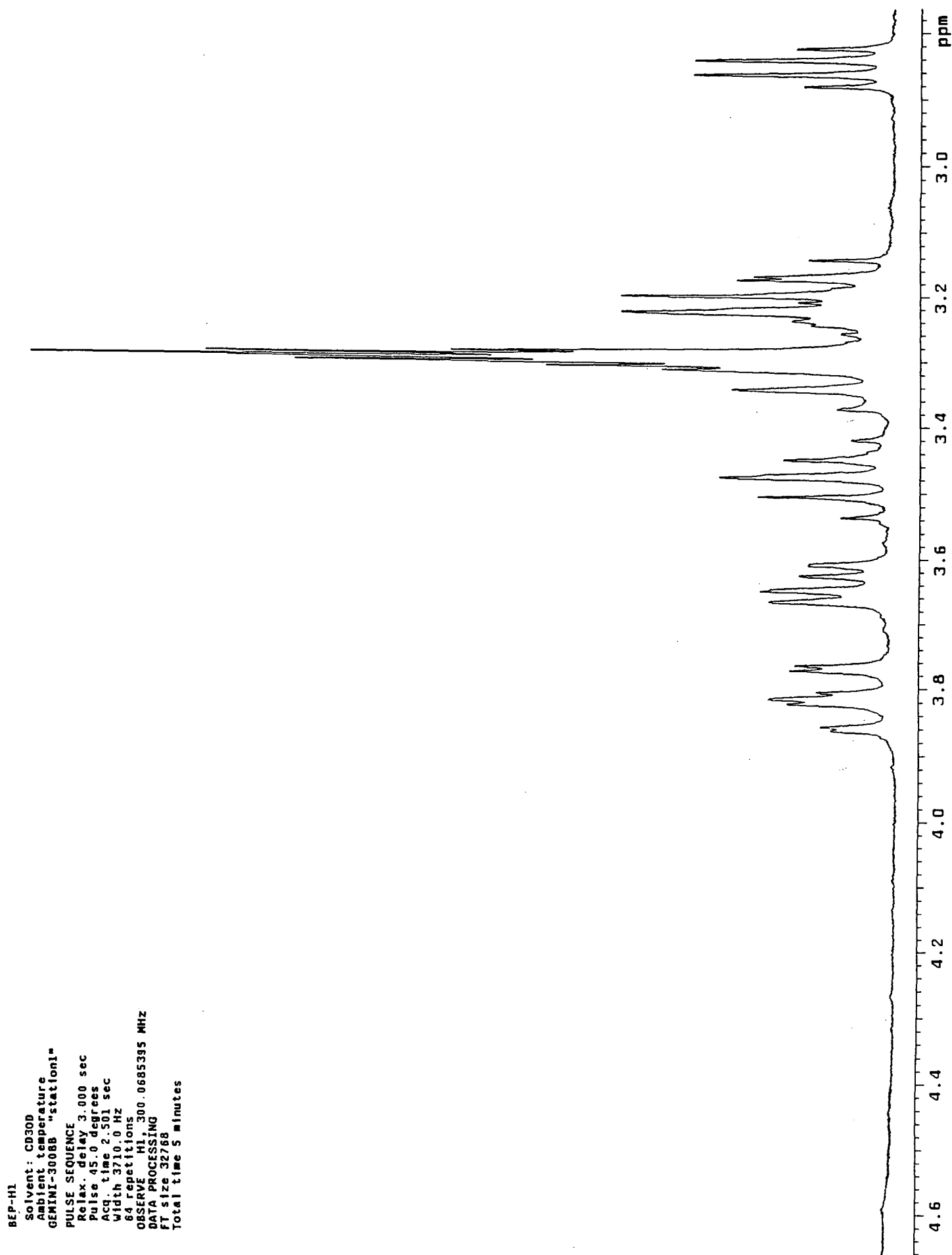
figura 57 espectro de RMN ^1H do 16,17 α -epoxi-esteviolbiosídeo(14) (CD_3OD)

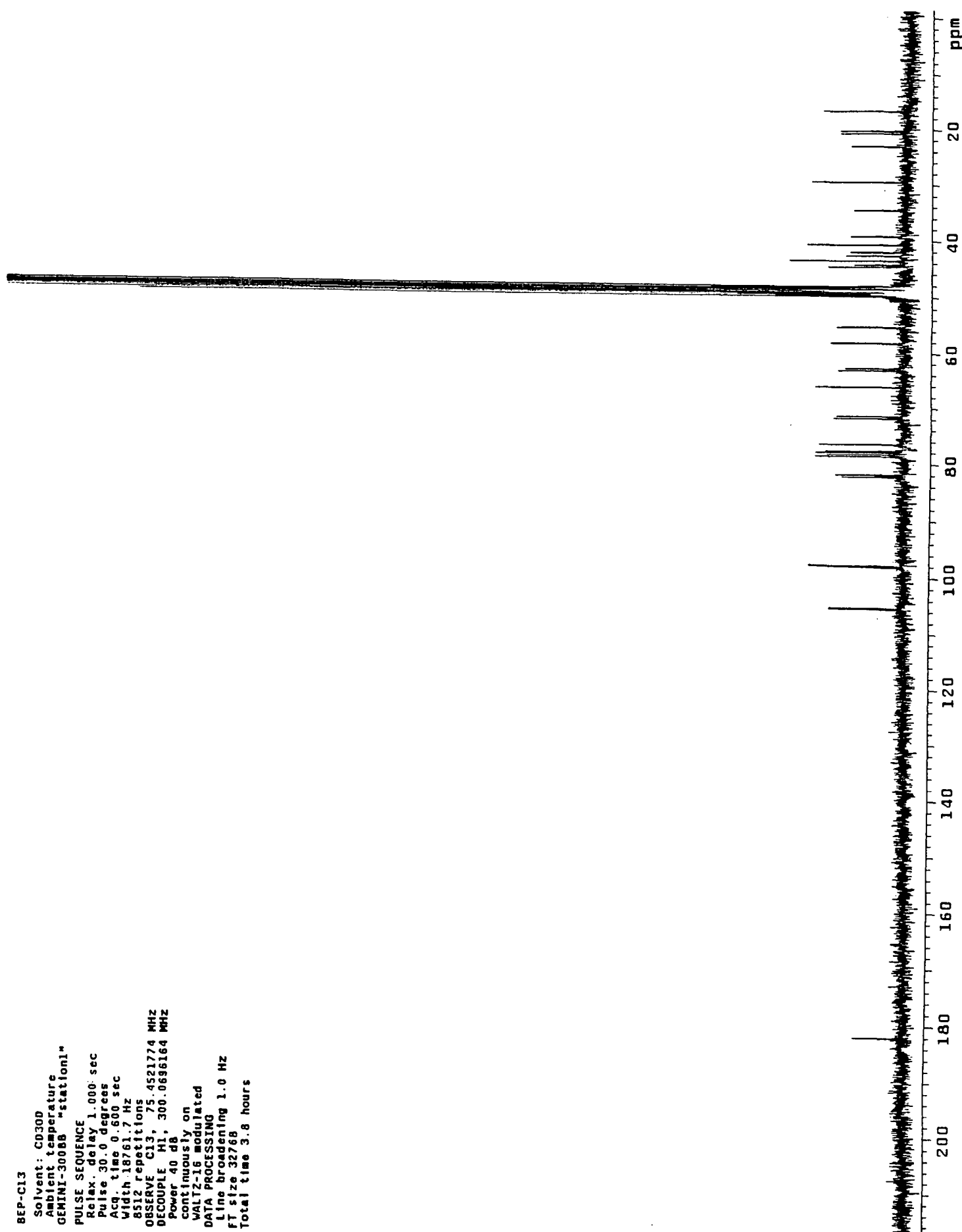
figura 58 espectro de RMN ^{13}C do 16,17 α -epoxi-esteviolbiosídeo(14) (CD_3OD)

figura 59 espectro de RMN ^{13}C do 16,17 α -epoxi-esteviolbiosídeo(14) (CD_3OD)

BEP-C13
 Solvent: CD300
 Ambient temperature
 GEMINI-300BB "station1"
 PULSE SEQUENCE
 Relax delay 1.000 sec
 Pulse 30.0 degrees
 Acq. time 0.600 sec
 Width 18761.7 Hz
 8512 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4521774 MHz
 DECOUPLE H1, 300.0696164 MHz
 Power 40 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 32768
 Total time 3.8 hours

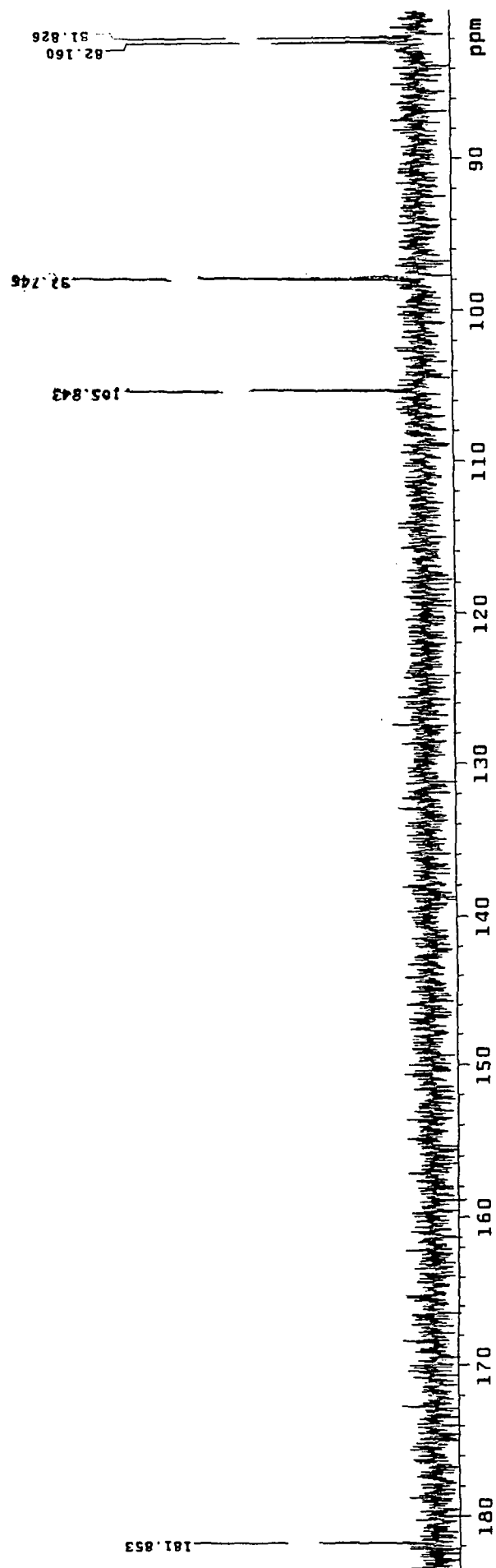
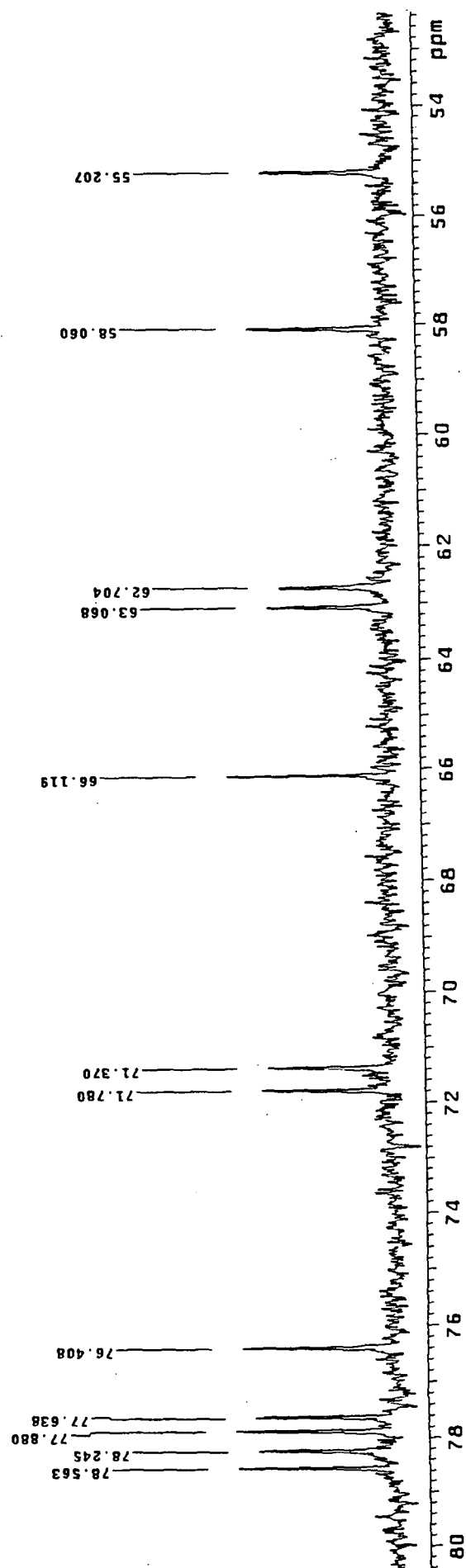


figura 60 espectro de RMN ^{13}C do 16,17 α -epoxi-esteviolbiosídeo(14) (CD_3OD)

BEP-C13
 Solvent: CD3OD
 Ambient temperature
 GEMINI-300SB "station1"
 PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 30.0 degrees
 Acq. time 0.600 sec
 Width 18761.7 Hz
 8512 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4521774 MHz
 DECOUPLE H1, 300.0696164 MHz
 Power 40 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 32768
 Total time 3.8 hours

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, K. AND SONOBE, M., **Use of stevioside in the food industry**. New food industry (Japan). 19, pg. 67-72, 1977.
- AKASHI and YOKOYAMA, **Dried leaf extracts of *Stevia***, Biological test, Shokuhin Kogyo, 18(20), 34-43, 1975.
- BOAKYE-YIADOM, K., FIAGEE, N. I. Y., AYIM, J. S. K., **Antimicrobial Properties of some west african medicinal plants IV**, Lloydia, vol 40, n 6, pg.543-545., 1977.
- BRIEDEL, M., and LAVILLE, R, Bull. Soc. Chim Biol., 13, pg. 636., 1931
- DIÁRIO OFICIAL, **Concessão de registro e medicamento número 3875/80 e 3876/80**, setembro, 19, 1980.
- DONG-LIANG CHENG, XIAO-PING CAO, HAN-XUN WEI, LAN HE, **Kaurene diterpenoids from *Aster ageratoides***, Phytochemistry, VOL 33, 5, PG. 1181-1183, 1993.
- FUJITA, E., NAGAO, Y, KANEKO, K., NAKAZAWA, S., KURODA, H., **The antitumor and antibacterial activity of the *Isodon* diterpenoids**, Chemical Pharmaceutical Bulletin, 24(9), pg.2118-2127, 1976.
- FUJITA, E., NODE, M., **Diterpenoids of *Rabdosia species***, Organic Natural Products, 46, 77, pg. 145-149, 1984.
- HANSOM, J. R., **The Biosynthesis of the Diterpenes**, W. Herz,H. Griesebach,G. W. Kirbpg. 395-416, 1971.
- KAZUYAMA, S., **Present status of sweeteners from *Stevia***, Shokuhin to kagaku, 21, (11), 90-94, 1979.
- KE CHEN, QIAN SHI, FUJIOKA, T., **Anti-aids agents, tripterifordin, a novel anti-HIV principle from *Tripterigium wilfordii* isolation and structural elucidation**, Journal of Natural Products, vol 55, 1, pg. 88-92, 1992.
- KINGHORN, A. D., NANAYAKKARA, N. P. D., KAMATH, S., **Potentiation origin I. Publication of *Stevia rebaudiana* sweet constituent by drople counter-Current Chomatography**, 237, pg. 478-483, 1982.
- KOO DONG HAN, JAE HOON AND SEA JONG OH, **Chemistry and of diterpenoids *Siegesbeckia pubescens***, Proc. Symp., pg. 17-31, 1975.

- KOSELA, S., RASAD, A., ACHMAD, S. A., WICAKSONON, W., BAIK, S. K., HAN, Y. N., HAN, B. H., **Effects of diterpene acids on malondialdehyde generation during thrombin induced aggregation of rat platelets**, Arch. Pharm. Res. 9(3), pg. 189-191, 1986.
- KUBO, I., TANIGUSHI, Y., SATOMURA AND KUBOTA, T., **Antimicrobial Activity and Chemical Structure of Diterpenoids**, Agr. Biol. Chem., 38, pg. 1261, 1974.
- KUBOTA, T., KUBO, I., **The two bitter principles of *Isodon shikokianus* Kudo**, Short Communications, 42,6, pg. 1778, 1969.
- KUBO, I., TANIGUSHI, M., SATOMURA, Y., AND KUBOTA, T., **Antibacterial activity and chemical structure of diterpenoids**, Agr. Biol. Chemistry, 38, pg.1261, 1974.
- LING-LING YANG, KUN-YING YEN, CHOHACHI KONNO, OSHIMA, Y., KISO, Y., IKINO, H., **Antihepatotoxic principles of *Wedelia chinesis* herbs**, Planta Medica, 6, pg. 499-500, 1986.
- NODE, M., SAI, M., FUJI, K., FUJITA, E., TAKEDA, S., UHEMI, N., **Antitumor activit of ditepenoids, trichoraboals a, b and c, and the related compounds: Synergism of two sites**, Chem. Pharm. Bull., 31(4), pg. 1433-1437., 1983.
- OLIVEIRA, B. H., **Tese de Doutorado**, 1989.
- OGAWA, T., NOZAKI, M., MATSUI, M., **Total synthesis of stevioside**, Tetrahedrom 36, pg. 2641-2648, 1980.
- PLANAS, G. M., KUC, S., **Contraceptive properties of *Stevia rebaudiana***, Science, 162, pg. 1007, 1968.
- PEZZUTO, J., COMPADRE, C. M., SWASON, S. M., NANAKAYAKKARA, N. P. D., KINGHORN, A. D., **Metabolically activated steviol, the aglicone of stevioside is mutagenic**, Product Natural Acad. Science USA, Vol 82, pg. 2478-2482, 1985.
- PEZZUTO, J., COMPADRE, C. M., SWASON, S. M., NANAKAYAKKARA, N. P. D., KINGHORN, A. D., GUENTHENER, T. M., SPARNINS, V. L., LAM, L. K. T., **Characterization of bacterial mutagenicity mediated by 13-hidroxy-ent-kaurenoic acid (steviol) and several structurally-related derivatives evaluation of potencial to induce glutathione S-transferase in mice**, Mutation Research, 169, pg. 93-103, 1986.
- RENUKA, M., PANDEY, R. C., **Cytotoxic and antitumor terpenoids, Antitumor Compounds of Natural Origin: Chemistry and Biochemistry vol II**, CRC Press, pg. 165-191, 1981.

RODRIGUEZ-LINDE, M. E., DIAZ, R. M., GARCIA-GRANADOS, A., QUEVEDO-SARMIENTO, J., MORENO, E., ONORATO, R. M., PARRA, A., RAMOS-CORMENZANA, A., **Antimicrobial activity of natural and semisynthetic diterpenoids from *sidenritis* spp**, Microbios, 77, pg. 7-13, 1994.

SOEJARTO, D. D., COMPADRE, C. M., MEDON, P. J., KAMATH, S. K., KINGHORN, A. D., **Potential Sweeteners Agents of Plant Origin II. Field Search for Sweet-Tasting *Stevia* Species**. Economic Botany, 37(1), pg. 71-79, 1983.

THE MERCK INDEX

TANIGUSHI, M., YAMAGUSHI, M., KUBO, I., KUBOTA, T., **Inibitory effect of *Isodon* diterpenoids on growth in *Lepidopterous* insects**, Agric. Biol. Chemistry, 43(1), 71-74, 1979.

TANAKA, O., **Chemistry of *Stevia rebaudiana* Bertoni**. Saengyak Hakhoe Chi II., pg. 219-227, 1977.

TSUCHIYA, S., **Sweeteners in pickled food** New Food Ind. Japan, 21, 12-15, 1979.

VIGNAIS, P. V., DUEE, E. D., VIGNAIS, P. M., HUET, J., **Effects of atractyligenin and its structural analogues on oxidative phosphorylation and on the translocation of adenine nucleotides in mitochondria**, Biochimica et Biophysica acta, pg. 465-483, 1966.

VILEGAS, W., ALVARENGA, M. A., ROQUE, N. F., **Ent-kauren diterpenes from the fruits of *Xylopia brasiliensis***, Revista Latinoamericana de Química, 20(2), pg. 98- 100, 1989.

WINGARD, R. E., BROWN, J. P., ENDERLIN, F. E., DALE, J. A., HALE, R. L., CEITZ, C. T., **Intestinal degradation and absorption of the glicosidic sweeteners stevioside and rebaudioside A1**, Experimentia 36 Birkhauser Verlag, Basel(Schweiz), pg. 519-520, 1980.

WOOD, H. B., ALERTON, JR. R., FLETCHER, H. G., Journal of Organic Chemistry, 20, pg. 875, 1955.

YAMAMOTO, N. S., BRACHT, A. M. K., ISHII, E. L., KEMMELMEIER, F. S., ALVAREZ, M., BRACHT, A., **Effect of steviol and its structural analogues on glucose production and oxygen uptake in rat renal tubules**, Experimentia 41, Birkhauser Verlag, Basel(Schweiz), pg. 55-57, 1985.